

Matleena Nieminen

# Laktoosi-intoleranssin diagnosointimenetelmät

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Insinööri (AMK)

Bio- ja kemiantekniikka

Insinöörityö

1.3.2018

Tekijä Otsikko	Matleena Nieminen Laktoosi-intoleranssin diagnosointimenetelmät
Sivumäärä Aika	36 sivua 1.3.2018
Tutkinto	insinööri (AMK)
Tutkinto-ohjelma	Bio- ja kemiantekniikka
Ammatillinen pääaine	Bio- ja elintarviketekniikka
Ohjaajat	Projektipäällikkö Päivi Junell Tuotekehitysjohtaja Lea Paloheimo Yliopettaja Veli-Matti Taavitsainen
<p>Laktoosi-intoleranssin toteamiseen on kehitetty useita erilaisia diagnostisia menetelmiä, joista yksi on tämän insinöörityön tilaajan Biohit Oyj:n tuottama Lactose Intolerance Quick Test eli LIQT. Työssä tarkastellaan erilaisia menetelmiä, niiden toimintaperiaatteita ja luotettavuutta, sekä pohditaan miten nämä ovat verrattavissa LIQT-menetelmään.</p> <p>Laktoosi-intoleranssi on maitosokerin eli laktoosin oireellinen imeytymishäiriö, joka aiheutuu laktoosia glukoosiksi ja galaktoosiksi pilkkovan laktaasientsyymin alentuneesta aktiivisuudesta. Aktiivisuuden alentuminen voi johtua perinnöllisistä tekijöistä tai olla ulkoisen tekijän, kuten suolistosairauden, aiheuttamaa. Suurin osa maailman väestöstä kärsii laktoosi-intoleranssista, mutta suomalaisista vaivaa esiintyy n. joka viidennellä.</p> <p>Laktoosi-intoleranssin diagnosointiin käytettyjä menetelmiä ovat laktoosirasituskoet, hengitystesti, geenitesti, LIQT, disakkaridaasianalyysi biopsiasta ja LacTEST. Laktoosirasituskoet perustuu glukoosin nousun osoittamiseen verestä laktoosin nauttimisen jälkeen. Hengitystesti mittaa vetyä, joka aiheutuu pilkkoutumattoman laktoosin bakteerifermentaatiosta paksusuoleessa. LacTEST on uusin menetelmä laktoosi-intoleranssin diagnosointiin ja perustuu laktoosin synteettisen vastineen nauttimiseen ja ksyloosin määrittämiseen virtsasta. Sekä LIQT että disakkaridaasianalyysi määrittävät laktaasiaktiivisuuden suoraan biopsiä näytteestä ja niitä käytetään endoskopiaan määrätuille potilaille, joskin disakkaridaasianalyysiä käytetään vaativuutensa vuoksi lähinnä tutkimustarkoituksiin. Geenitesti ei ole funktionaalinen eli toiminnallinen menetelmä, vaan se osoittaa laktaasiaktiivisuuden alentumisen aiheuttavan genotyypin.</p> <p>Yleisin laktoosi-intoleranssin toteamiseen käytetty menetelmä on hengitystesti, koska se ei ole invasiivinen ja on rasituskoetta luotettavampi. Tulevaisuus näyttää, ottaako LacTEST paikkansa kliinisessä käytössä ja haastaa hengitystestin luotettavuudellaan. Myös geenitesti on kliinisessä käytössä, mutta muista menetelmistä poiketen se ei osoita ulkoisista syistä johtuvaa laktoosi-intoleranssia eikä anna tietoa laktaasin senhetkisestä aktiivisuudesta. LIQT on mm. hengitystestiä ja rasituskoetta luotettavampi menetelmä, mutta vaatii endoskopiatuskimen. Endoskopiaan määrätuille potilaille LIQT on erinomainen ja yksinkertainen menetelmä laktoosi-intoleranssin tunnistamiseen.</p>	
Avainsanat	laktoosi-intoleranssi, hypolaktasia, diagnostiikka

Author Title	Matleena Nieminen Diagnosing Methods for Lactose Intolerance
Number of Pages Date	36 pages 1 March 2018
Degree	Bachelor of Engineering
Degree Programme	Biotechnology and Chemical Engineering
Professional Major	Biotechnology and Food Engineering
Instructors	Päivi Junell, Project Manager Lea Paloheimo, Director of R&D Veli-Matti Taavitsainen, Senior Lecturer
<p>There are many different methods to diagnose lactose intolerance, and one of them is the Lactose Intolerance Quick Test, LIQT, manufactured by Biohit Oyj, which also is the subscriber of this thesis. The different methods, their principles and reliability are considered in this thesis as well as how the other methods are comparable to the LIQT methodology.</p> <p>Lactose intolerance is the symptomatic condition of the malabsorption of milk sugar, lactose. The condition is caused by the decreased activity of lactase enzyme, which is the one to divide lactose into glucose and galactose. The decrease in the activity can be due to either hereditary or external factors, such as intestinal disease. Most of the world's population has lactose intolerance, but in Finland the disorder appears in approximately every fifth of the population.</p> <p>The methods for diagnosing lactose intolerance are lactose tolerance test, breath test, gene test, LIQT, disaccharidase assay from biopsy and LacTEST. The tolerance test is based on detecting the rise of glucose in blood after the intake of lactose. Breath test detects the hydrogen caused by the bacterial fermentation of the undivided lactose in colon. LacTEST is the newest methodology in the diagnosis of lactose intolerance and is based on the intake of the synthetic counterpart of lactose and quantification of xylose in urine. Both LIQT and disaccharidase assay detect lactase activity straight from biopsy and are used for patients undergoing endoscopy; thus, disaccharidase assay is mainly used for research purposes. Gene test is not a functional test and is used to detect the genotype causing the decrease in lactase activity.</p> <p>The most used test for the diagnosis of lactose intolerance is the breath test since it is not invasive and is more reliable than the tolerance test. Future will show if the LacTEST will take its place in the clinical practice and challenge the breath test with its reliability. Gene test is also in the clinical use, but unlike other methods, it does not detect the lactose intolerance caused by external factors; neither does it provide information about current lactase activity. LIQT is found as more accurate method than for example the breath test and the tolerance test, but requires an endoscopy to be used. However, LIQT is an excellent and simple method for detecting lactose intolerance in endoscopy patients.</p>	
Keywords	lactose intolerance, hypolactasia, diagnostics

# Sisällys

## Lyhenteet

1	Johdanto	1
2	Laktaasin puutoksen muodot	3
2.1	Primaarinen hypolaktasia	3
2.2	Sekundaarinen hypolaktasia	4
3	Esiintyvyys ja historia	5
4	Kvalitatiivisten diagnoosimenetelmien vertailu	7
5	Todentamismenetelmät	10
5.1	Laktoosirasituskoe	10
5.2	Hengitystesti	12
5.3	Disakkaridaasientsyymin aktiivisuusmittaus ohutsuolesta	13
5.4	Geenitesti	14
5.5	Lactose Intolerance Quick Test	16
5.6	Ksyloosin määrittäminen virtsasta	21
5.7	Muut menetelmät	26
6	Pohdinta	27
7	Yhteenveto	32
	Lähteet	33

## Lyhenteet

LIQT	<i>Lactose Intolerance Quick Test</i> . Biohit Oyj:n valmistama laktoosi-intoleranssin nopeaan toteamiseen tarkoitettu diagnostinen testi, joka perustuu laktaasiaktiivisuuden osoittamiseen biopsianäytteestä.
NPV	<i>Negative Predictive Value</i> . Negatiivinen ennustearvo eli diagnostisen testin oikeiden negatiivisten tulosten osuus kaikista negatiivisista testituloksista.
PPV	<i>Positive Predictive Value</i> . Positiivinen ennustearvo eli diagnostisen testin oikeiden positiivisten tulosten osuus kaikista positiivisista testituloksista.

## 1 Johdanto

Laktoosi-intoleranssi on yleinen vaiva, ja sen oireet ovat usein epäiltyjä suomalaisten maidonkulutustottumusten vuoksi. Laktoosi-intoleranssilla tarkoitetaan oireellista tilannetta, jossa suolinukan päässä sijaitseva laktaasientsyymi ei pilko maitosokeria, laktoosia. Laktoosi-intoleranssi voi olla perinnöllistä tai ulkoisen tekijän aiheuttamaa, ja aikuis-tyypin perinnöllisestä laktoosi-intoleranssista kärsiikin 17 % suomalaisista. [Piirainen & Kolho 2008; Hillilä 2007: 2743.]

Laktoosi on disakkaridi, jonka laktaasi pilkkoo kahdeksi monosakkaridiksi: glukoosiksi ja galaktoosiksi. Vasta pilkkouduttuaan laktoosi on kykeneväinen imeytymään ohutsuolessa, kun taas pilkkoutumaton laktoosi jää suoleen ja jatkaa kulkuaan pidemmälle ruuansulatuskanavassa muun sisällön mukana. Paksusuolessa bakteerit käyttävät pilkkoutumatonta laktoosia ravinnokseen muodostaen kaasuja ja lyhytketjuisia rasvahappoja. Kaasut venyttävät suolta ja aiheuttavat laktoosi-intoleranssille tyypillisiä oireita, kuten ilmavaivoja, vatsakipua ja turvotusta. Laktoosi myös aiheuttaa paksusuolessa osmoosireaktion, jolloin suoleen imeytyy lisää vettä ja seurauksena on ripuli. Oireiden voimakkuus on yksilöllistä, ja niiden syntyyn vaikuttaa nautitun laktoosin määrän lisäksi mm. mahalaukun tyhjenemisnopeus. Yksilön aineenvaihdunnasta riippuen oireet syntyvät 1–3 tuntia laktoosin nauttimisen jälkeen. [Kolho 2013; Mustajoki 2017.]

Laktoosi-intoleranssi sekoitetaan usein virheellisesti maitoallergiaan, jossa oireet aiheutuvat maidon proteiineista ja kehon niitä vastaan tuottamista IgE-vasta-aineista, ei maitosokerista. Laktoosi-intoleranssi ei myöskään ole allergiaa maitosokerille vaan imeytymishäiriö. Suolisto-oireiden lisäksi maitoallergia aiheuttaa iho-oireita, mahdollisesti myös hengitysoireita tai allergisen yleisreaktion. Oirekuvakaan ei siis ole täysin yhtenevä laktoosi-intoleranssin kanssa. Toisin kuin maitoallergiassa, laktoosi-intoleranssista kärsivän ei tarvitse välttää kaikkia maitotuotteiden nauttimista, vaan voi käyttää niitä oireiden sallimissa rajoissa. Tila ei ole vaarallinen, joten laktoosi-intoleranttikko voi etsiä laktoosin siedon rajaansa ruokavaliokokeiluilla. Aikuisilla maidon aiheuttamat oireet johtuvat yleisimmin laktoosi-intoleranssista, mutta lapsilla oireiden taustalla on useammin maitoallergia. [Kaila ym. 2001; Kolho 2013.]

Laktoosi-intoleranssi on pysyvä tila, ellei se ole ulkoisen tekijän aiheuttamaa. Laktoosin sietoa ei voi parantaa laktoosia nauttimalla eikä ehkäistä laktaasin aktiivisuuden laskua [Kolho 2013]. Ainoa hoito vaivaan on laskea laktoosinkulutus oman henkilökohtaisen

sietorajan alapuolelle. Laktoosi-intolerantikoillakin esiintyy heikkoa laktaasientsyymin toimintaa, mistä syystä pienet määrät ovat siedettyjä. Oireet syntyvät vasta, kun laktoosin määrä ylittää laktaasin pilkkomiskyvyn. Useimmat vaivasta kärsivät voivat nauttia yhden maitolasillisen verran laktoosia ilman oireiden ilmaantumista. Laktoosin sieto on yleensä parempi, jos laktoosi nautitaan ruokailun yhteydessä. Kiinteä ruoka etenee suolistossa nestemäistä hitaammin, jolloin laktaasilla on enemmän aikaa prosessoida laktoosia. Hapanmaitotuotteet, kuten jugurtit, ovat siedetympiä laktaasin puutoksessa, sillä ne luonnostaan sisältävät vähemmän laktoosia kuin prosessoimattomat maitotuotteet. Elintarviketeollisuus tarjoaa myös laajan valikoiman vähälaktoosisia ja laktoosittomia tuotteita. Satunnaisesti voidaan myös käyttää ruokaan lisättäviä, laktaasia sisältäviä tippoja ja kapseleita. [Vesa ym. 1993; Puhakka 2014: 216.]

Ihminen oppi käyttämään märehtijöitä maidon lähteenä n. 10 000 vuotta sitten, ja nykypäivään mennessä maitoteollisuus on kasvanut yhdeksi suurimmista elintarviketeollisuuden sektoreista maailmassa [Silanikove ym. 2015]. Ihmisten maidonkulutus ja maitotuotteiden käyttö on kasvanut, minkä ohella tietoisuus laktoosi-intoleranssista on lisääntynyt.

Tämän työn tilaajana toimii Biohit Oyj, joka on vuonna 1988 perustettu kansainvälisillä markkinoilla toimiva suomalainen bioteknologiayritys. Konsernin pääkonttori sijaitsee Helsingissä ja tytäryhtiöt Iso-Britanniassa ja Italiassa. Biohit tuottaa ja tarjoaa monia innovatiivisia tuotteita sekä laboratoriopalveluita. Yrityksen diagnostiikka-liiketoiminta keskittyy erityisesti ruoansulatuskanavan sairauksien ennalta ehkäisyyn ja toteamiseen, ja tuotevalikoima sisältääkin muun muassa monia erilaisia diagnostisia testejä. [Biohit HealthCare - Innovating for Health.]

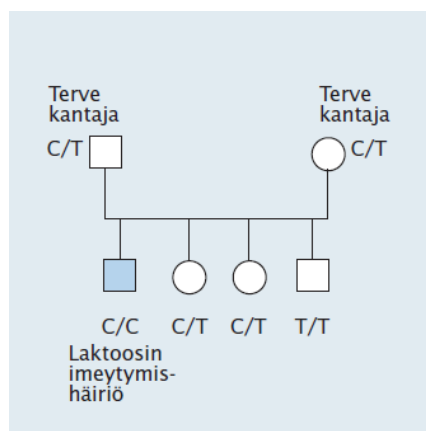
Laktoosi-intoleranssin toteamiseen on kehitetty useita erilaisia menetelmiä, joista yksi on Biohit Oyj:n laktaasientsyymin aktiivisuuden toteamiseen biopsianäytteestä perustuva Lactose Intolerance Quick Test, eli LIQT. Tässä työssä paitsi esitellään kyseinen menetelmä, myös pohditaan, mitä muita menetelmiä on tarjolla, mihin niiden toiminta perustuu ja miten ne ovat verrattavissa LIQT-menetelmään.

## 2 Laktaasin puutoksen muodot

### 2.1 Primaarinen hypolaktasia

Perinnöllistä laktaasin puutosta kutsutaan primaariseksi hypolaktasiaksi. Hypolaktasialla tarkoitetaan aktiivisen suolilaktaasin niukkuutta, ja vasta oireellista tilaa kutsutaan laktoosi-intoleranssiksi [Mustajoki 2017]. Primaarista hypolaktasiaa ilmenee kahdessa muodossa: hankinnaisena ja synnynnäisenä. Hankinnaisella hypolaktasialla tarkoitetaan aikuistyyppin laktaasin puutosta, jolloin syntyessä lapsen suolilaktaasin taso on korkealla, mutta alkaa heiketä imeväisiän jälkeen. Suomalaisilla hankinnainen laktoosi-intoleranssi puhkeaa usein vasta kouluiässä, mahdollisesti vasta myöhemminkin. Laktoosi-intoleranssista puhuttaessa yleensä tarkoitetaan hankinnasta hypolaktasiaa, ja geneettinen testaus perustuukin vain tämän laktaasin puutoksen toteamiseen. [Hillilä 2007: 2743; Vavricka & Wilhelmi 2017: 222.]

Hankinnainen hypolaktasia periytyy peittyvänä ominaisuutena, kun laktaasin aktiivisuuden säilyminen on geneettisesti dominoiva ominaisuus. Laktaasientsyymin läheisyydessä sijaitsevassa LCT13910-geenissä yksittäisen nukleotidin polymorfia aiheuttaa laktaasin aktiivisuuden säilymisen ja hankinnaisesta hypolaktasiasta kärsiville tämä pistemutaatio ei ole periytynyt. Hypolaktasian aiheuttavaa genotyyppiä käsitellään tarkemmin geenitestistä käsittelevässä luvussa 5.4, mutta alla oleva kuva 1 havainnollistaa hypolaktasian periytymistä, jossa C on hypolaktasian aiheuttava ja T laktaasin aktiivisuuden säilyttävä ominaisuus. Esimerkissä olevat vanhemmat ovat genotyypiltään heterotsygotteja, jolloin heidän lapsillaan on 25 %:n todennäköisyys periä hypolaktasian aiheuttava genotyyppi C/C. [Vavricka & Wilhelmi 2017: 222; Savilahti & Järvelä 2002: 4340.]



Kuva 1. Esimerkki hypolaktasian periytymisestä [Savilahti & Järvelä 2002: 4340].



Synnynnäinen laktaasin puutos on erittäin harvinainen sairaus, jota esiintyy Suomessa enemmän kuin muualla maailmassa. Vaiva esiintyy lapsella vastasyntyneisyysässä vaikeana ripulitautina, aivan ensimmäisten elinvuorokausien aikana. Oireena on huomattava, sokeripitoinen ripuli, jonka myötä voi seurata elimistön kuivumista, energiavajetta, painon laskua ja kasvun hidastumista, jolloin lapsi voi vaatia jopa sairaalahoitoa. Rintamaito sisältää runsaasti laktoosia, joten sairastavilla lapsilla ravintona käytetään äidinmaidon korviketta, jossa hiilihydraattina on käytetty esimerkiksi sakkaroosia tai malto-dekstriiniä. [Vesa ym. 1993: 33; Kolho 2013.]

Synnynnäinen ja hankinnainen hypolaktasia eroavat selkeimmin toisistaan oireiden alkamisajankohdan ja vakavuuden perusteella. Kun lapselta puuttuu laktoosin sieto jo synnytyessä, estää runsas ripuli painon nousun ja hoitamattomana kuivumistila on vakava. Hankinnaisessa hypolaktasiassa laktaasiaktiivisuus laskee vasta imeväisiän jälkeen, sillä tila on toiminut luonnollisena tapana vieroittaa lapsi rintamaidosta. Kun oireet ilmaantuvat vasta lapsen saadessa tarvitsemansa ravinto muualta, ei sairaus ole vaarallinen vaan lähinnä epämukava. [Torniainen ym. 2009.]

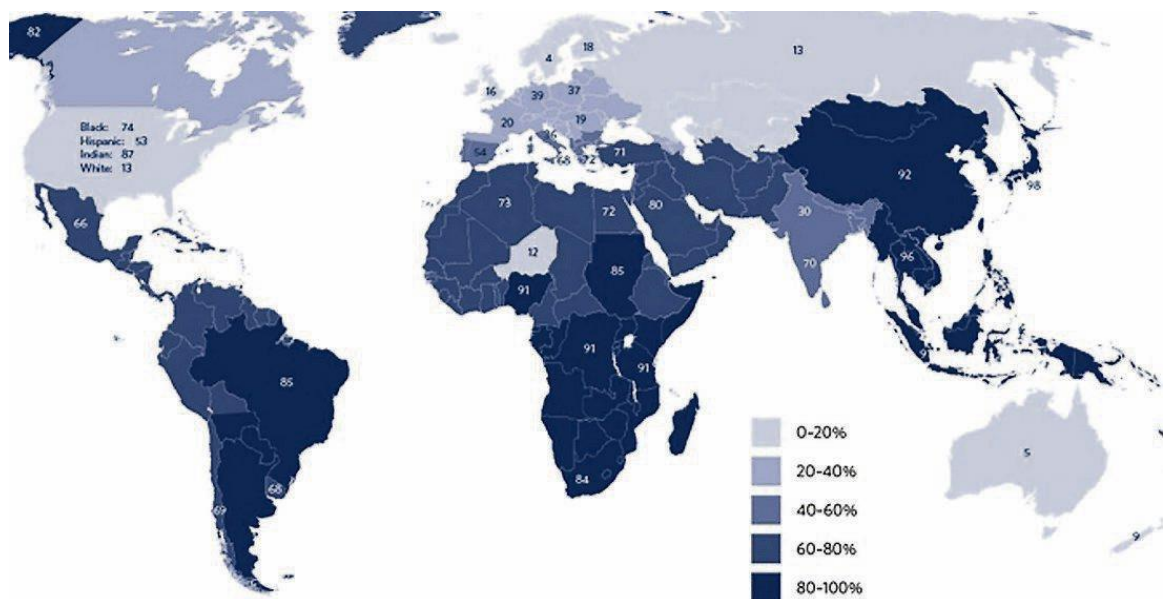
## 2.2 Sekundaarinen hypolaktasia

Laktaasin puutos voi johtua myös ulkoisesta, suolinukkaa vaurioittaneesta tekijästä, jolloin puhutaan sekundaarisesta hypolaktasiasta. Laktaasia esiintyy eniten suolinukan kärjessä, ja sijaintinsa vuoksi se on erittäin herkkä suolen vaurioille. Sekundaarisen hypolaktasian aiheuttajia voivat olla muun muassa keliakia, giardian aiheuttama suolistoinfektio, syöpä, ohutsuolen tulehdus, suoleen kulkeutunut myrkky, sädehoito, alkoholi tai lapsilla esimerkiksi rotavirus. Jopa 5 % Suomessa esiintyvistä laktoosi-intoleranssista johtuu keliakiasta, joka on myös lapsilla merkittävin sekundaarisen laktoosi-intoleranssin aiheuttaja. Sekundaarinen hypolaktasia ei ole pysyvä tila, vaan vaivan tulisi poistua suolta vaurioittaneen vaivan hoidon myötä. Infektiosta johtunut hypolaktasia paranee keskimäärin 2–4 viikossa, mutta vaurioiden laajuudesta riippuen suolistovaurion korjaantuminen voi kestää pidempäänkin. [Vesa ym. 1993: 28–30, 33–34; Savilahti & Järvelä 2002: 4338; Kolho ym. 2004; Puhakka 2014: 216.]

### 3 Esiintyvyys ja historia

Laktoosi-intoleranssi ei varsinaisesti ole sairaus, vaan geneettisesti alkuperäinen tila. Nykyisinkään arviolta yli 65 % maailman väestöstä ei siedä laktoosia. Luonnontilassa vain imeväisikäiset voivat maitoa ja laktaasin aktiivisuuden säilyminen aikuisväestöllä olisi ollut tarpeetonta. Toisaalta taas laktoosin siedon laskusta iän mukana on ollut hyötyä, sillä tämä on eläimillä saanut aikaan luonnollisen äidinmaidosta vieroittautumisen. Maanviljelyn ja karjanhoidon myötä ihminen oppi hyödyntämään ruokavaliossaan muiden lajien naaraiden erittämää maitoa, mikä mahdollisti uuden, puhtaan ravinnonlähteen. Tämä vaikuttaa luoneen valintapainetta, ja luonnonvalinta on suosinut laktaasin siedon aiheuttavaa mutaatiota kantaneita. [Vuorisalo ym. 2012: 1321; Kolho 2013; Mustajoki 2017.]

Laktoosin sieto vaihtelee vahvasti alueen ja etnisyyden mukaan. Alueelliset erot laktoosin siedossa ovat selitettävissä eri väestöjen geneettisellä valikoitumisella. Etnisyys vaikuttaa paitsi laktoosi-intoleranssin esiintyvyyteen, myös hankinnaisen hypolaktasian puhkeamisikään. Suomalaisilla laktaasiaktiivisuus laskee useimmiten 5–12 vuoden iässä, mutta joissain maissa jo välittömästi imeväisiän jälkeen. Esimerkiksi Afrikassa ja Aasiassa laktoosin pilkkomiskyky puuttuu lähes kaikilta kahden vuoden ikään mennessä. Laktoosi-intoleranssin yleisyyttä maailman eri väestöissä on havainnollistettu kuvassa 2 olevalla kartalla. [Savilahti & Järvelä 2002: 4338; Kolho 2013; Puhakka 2014: 216; Mustajoki 2017.]



Kuva 2. Laktoosi-intoleranssin esiintyvyys eri väestöissä [McCullough 2013].

Eniten laktoosin pilkkomiskyvyn säilyttäviä löytyy pohjoisen valkoisesta väestöstä. Erityisesti Pohjoismaissa laktoosin sieto on korkealla ja laktoosi-intoleranssia ilmenee Ruotsissa, Norjassa ja Tanskassa ainoastaan 1–2 %:lla väestöstä. Suomessa ensisijaista laktaasin puutosta esiintyy siis selvästi eniten, vaikka eroja esiintyvyydessä ilmenee Suomen sisälläkin. Itä-Suomessa hypolaktasiaa esiintyy hieman Länsi-Suomea enemmän, ja ruotsinkielisessä väestössä laktaasin puutosta ilmenee ainoastaan 8 prosentilla. [Kolho ym. 2004.]

Aasiassa laktoosi-intoleranssi on lähes kaikilla. Myös Afrikassa hypolaktasiaa ilmenee suurimmalla osalla joitakin karjaa kasvattavia kansoja lukuun ottamatta, joilla laktoosin sietäminen on yleisempää. Amerikan ja Australian alkuperäisväestöissä laktoosin sietoa ei juurikaan esiinny. [Paloheimo 2016.]

Historian valossa vaikuttaa siltä, että laktoosin sieto ja prosessoimattoman maidon käyttö korreloivat keskenään. Maidon prosessoinnin seurauksena esimerkiksi juustoissa ja jugurteissa on vähän laktoosia ja monet juustot on kehitetty alueilla, joissa laktoosi-intoleranssi on nykyäänkin yleistä. Tällaisia maita on esimerkiksi Etelä-Euroopassa ja Lähi-idässä. Vastaavasti taas Rooman aikakauden taltioinneista selviää, että ainakin Brittein saarien väestö ja saksalaiset ovat juoneet prosessoimatonta maitoa. Skandinavian ohella Britanniassa ja Saksassa laktoosin sieto onkin nykypäivänä korkealla. [Silanikove ym. 2015.]

Pohjoiseurooppalaisten laktoosin sieto on usein yhdistetty auringonvalon vähyyteen ja siten D-vitamiinin saannin niukkuuteen. Maito on tarjonnut D-vitamiinin lähteen muiden ravinteidensa ohella ja siten suonut merkittävän ravitsemisedun. Afrikan heimoissa taas D-vitamiinin saannista ei ole ollut huolta, ja luonnonvalintaa laktoosin siedon suhteen on yritetty selittää mm. maidon tarjoamilla ravintoaineilla ja kaloreilla. [Silanikove ym. 2015.]

Teoriassa, jonka mukaan laktaasin sieto on yleistynyt pohjoisessa ravinnonsaannin vuoksi, on kuitenkin aukkonsa. Esimerkiksi Suomessa historia ei tue käsitystä maidonjuonnin suuresta merkityksestä. Maidon saatavuus oli heikkoa, sillä nautaa oli vähän ja niukan ravinnonsaannin takia naudat maidontuotantokin oli niukkaa. Aikuisväestön maidon juonti yleistyiikin Suomessa vasta 1800-luvun jälkipuolella. Vaikuttaakin siis siltä, että laktoosin siedon geeni kulkeutui maahan, kun kivikautisväestöä siirtyi Keski-Euroopan maidontuotantoalueilta Suomeen. [Vuorisalo ym. 2012: 1322.]

#### 4 Kvalitatiivisten diagnoosimenetelmien vertailu

Diagnostiset testit ja tutkimukset eivät miltei koskaan anna täyttä varmuutta potilaan diagnoosista, vaan niihin liittyy aina epävarmuutta. Testit sen sijaan vaikuttavat arvioon jonkin sairauden tai tilan todennäköisyydestä, kuten tämän työn tapauksessa hypolaktasian todennäköisyydestä potilaalla. Diagnostisen testin tulosta voidaankin arvioida eri tunnuslukujen avulla. Dikotomisen eli kaksiluokkaisen testin luotettavuutta voidaan arvioida mm. herkkyiden, spesifisyyden, positiivisen ennustearvon PPV ja negatiivisen ennustearvon NPV perusteella. Monissa menetelmissä mahdollisia tuloksia on kuitenkin enemmän kuin kaksi, mutta menetelmälle luotujen raja-arvojen ja normaalialueiden määrittelyksellä menetelmästä saadaan dikotominen, jolloin tulos on joko positiivinen tai negatiivinen ja sitä voidaan tarkastella edellä mainittujen tunnuslukujen avulla. Esimerkiksi myöhemmin esiteltävässä laktoosirasituskokeessa tutkitaan veren glukoosipitoisuuden nousua ja raja-arvoksi on määritetty 1,1 mmol/l, jolloin ylittävä arvo tulkitaan negatiiviseksi hypolaktasian suhteen ja alittava arvo positiiviseksi. [Uhari 2004.]

Menetelmän herkkyydellä tarkoitetaan oikeiden positiivisten testitulosten määrää kaikista tutkittavan otoksen vaivaa sairastavista [Uhari 2004]. Tässä insinööriyössä esiteltujen menetelmien tapauksessa siis oikeiden hypolaktasian tulosten määrää kaikista tutkimukseen osallistuneista hypolaktasiaa sairastavista. Hypolaktasiaa sairastavien määrä määritellään vertailutestillä, jonka tulos oletetaan todeksi. Esimerkiksi laktoosirasituskokeen herkkyys verraten geenitestiin laskettaisiin jakamalla positiivisen hypolaktasiatuloksen sekä rasituskokeessa että geenitestissä saaneet kaikkien geenitestistä positiivisen tuloksen saaneiden määrällä. Tilannetta voidaan havainnollistaa nelikenttätaululla, josta esimerkki on esitetty kuvassa 3. Kuvassa positiivisella ja negatiivisella testituloksella viitataan tarkastelussa olevan testin tulokseen. Hypolaktasialla ja normolaktasialla tarkoitetaan vertailumenetelmällä saatua diagnoosia. Tässä esimerkin tapauksessa tarkasteltavan testin herkkyys oikeiden positiivisten osuus kaikista hypolaktasiaa sairastavista olisi siis 25/27, eli noin 93 %.

	Hypolaktasia	Normolaktasia	
Positiivinen	25	6	31
Negatiivinen	2	22	24
	27	28	

Kuva 3. Nelikenttätaulun esimerkki, jossa positiivisella ja negatiivisella tarkoitetaan tarkasteltavan testin tulosta, ja hypolaktasiolla ja normolaktasiolla vertailumenetelmän tulosta.

Spesifisyys kuvaa oikeiden negatiivisten testitulosten osuutta kaikista terveistä, eli oikeiden normolaktasia tulosten osuutta kaikista, joilla on korkea laktaasiaktiivisuus. Herkkyyden tapaan vertailukohtana käytetään toista menetelmää, joka oletetaan todeksi. Yllä olevan kuvan 3 esimerkissä oikeiden negatiivisten tulosten osuus kaikista normolaktasian omaavista on 22/28 eli spesifisyys on n. 79%

Positiivinen ennustearvo eli PPV kertoo diagnostisen testin oikeiden positiivisten tulosten osuuden kaikista testiposiitivisista. Erona herkkyyteen on vertailukohta, sillä herkkyydessä jakajana on vertailutestin tai -testien perusteella määritetty vaivaa sairastavien määrä. PPV:n tapauksessa tutkittavan testin oikeiden positiivisten määrää verrataan tutkittavan testin kaikkiin positiivisiin tuloksiin, mukaan lukien väärät positiiviset. Kuvan 3 esimerkkitaulussa PPV:n arvo saadaan taulun yläriviltä  $25/31 \approx 81\%$ . Negatiivinen ennustearvo NPV taas on PPV:n vastakohta, eli oikeiden negatiivisten osuus kaikista testin negatiivisista tuloksista. Nelikenttätaulussa tämä saadaan laskettua alariviltä (22/24). [Uhari 2004.]

Diagnostisten menetelmien arviointiin käytettävien tunnuslukujen heikkous piilee siinä, että ne pohjautuvat vertailumenetelmän perusteella määritettyihin diagnooseihin. Mikäli vertailumenetelmän tulos on virheellinen, tämä voi näyttäytyä todellisuutta pienempänä tunnusluvun arvona. Luvut riippuvat myös tutkimuksessa käytettävästä otoksesta, ja esimerkiksi pienessä otannassa yksikin mittausvirhe vaikuttaa tunnuslukujen arvoon merkittävästi.

Tunnusluvut kuvaavat onnistuneiden testien lukumäärää, jolloin ne noudattavat binomijakaumaa ja ovat helposti laskettavissa myös erilaisten datan käsittelyohjelmien binomitestien avulla. Tällainen testi on esimerkiksi RStudiolla käytettävä `binom.test`, joka määrittävän tunnusluvun lisäksi kertoo mm. sen 95 %:n luottamusvälin. Tällä tarkoitetaan väliä, jolla tunnusluvun todellinen arvo sijaitsee 95 %:n varmuudella, sillä tunnusluku kuvaa onnistuneen testituloksen todennäköisyyttä. Tunnuslukujen määrittämiseksi tehtävä binomitesti suoritetaan RStudiassa alla olevan koodin avulla, jossa ”onnistuneet tulokset” tilalle sijoitetaan onnistuneiden tulosten lukumäärä ja ”kaikki tulokset” tilalle kaikkien vertailun kohteena olevien tulosten lukumäärä. [Taavitsainen 2010: 22 & 69.]

```
> print(binom.test(onnistuneet tulokset, kaikki tulokset, p=1/2))
```

Kuvan 3 esimerkissä herkkyys siis määritettäisiin RStudiassa alla olevalla tavalla, jossa ”probability of success” antaa halutun tunnusluvun ja ”95 percent confidence interval” luottamusvälin.

```
> print(binom.test(25, 27, p=1/2))
```

```
Exact binomial test
```

```
data: 25 and 27
number of successes = 25, number of trials = 27,
p-value = 5.648e-06
alternative hypothesis: true probability of success is not equal to 0.5
95 percent confidence interval:
 0.7571017 0.9908999
sample estimates:
probability of success
      0.9259259
```

## 5 Todentamismenetelmät

Yleisin käytetty keino laktoosi-intoleranssin toteamiseen on 2–3 viikon laktoosittoman ruokavalion kokeilu, jonka aikana oireiden tulisi hävitä [Savilahti & Järvelä 2002: 4338]. Kokeilun jälkeen nautitaan runsaasti maitotuotteita, minkä myötä oireiden tulisi palata. Tulee kuitenkin muistaa, ettei suotuista ruokavaliokokeilu aina indikoi hankinnaista hypolaktasiaa, vaan taustalla voi olla esimerkiksi keliakiasta johtuva sekundaarinen laktaasin puutos. [Puhakka 2014: 216; Kolho 2013.]

Joskus oireet voivat olla epämääräisiä tai taustalla olla jokin muu laktoosi-intoleranssin kaltaisia oireita aiheuttava vaiva, kuten ärtyvän suolen oireyhtymä. Myös esimerkiksi lasten on usein aikuisia hankalampi havaita nautitun laktoosin ja oireiden välinen yhteys, sekä motivaatio ruokavaliokokeiluun voi olla alhainen. Erikoisruokavalion takaamiseksi esimerkiksi lasten hoitopaikat saattavat myös pyytää todistusta vaivasta. Näistä syistä johtuen tarvitaan erilaisia diagnostisia menetelmiä laktoosi-intoleranssin osoittamiseen. Menetelmä voi mitata suoraan laktaasin aktiivisuutta, tai perustua laktoosin pilkkoutumisen seurauksena erittyvien aineiden pitoisuuden muutoksiin. [Hillilä 2007: 2744; Kolho 2013.]

### 5.1 Laktoosirasituskoe

Laktoosirasituskoe on yleisimmin käytetty laktoosi-intoleranssin todentamismenetelmä Suomessa, mutta sen käyttö on vähenemään päin ja jopa poistumassa laboratorioden tutkimusvalikoimasta. Testi perustuu veren glukoosipitoisuuden muutokseen. Ennen testiä potilaan tulee olla paastossa vähintään 10 tuntia, jolloin ensimmäisellä verensokerin mittauksella saadaan paastoarvo. Testattava nauttii 50 g:n annoksen laktoosia, minkä jälkeen glukoosipitoisuudet määritetään 20 minuutin välein yhden tunnin ajan. Alle 1,1 mmol/l pitoisuuden nousu indikoi laktoosi-intoleranssia, sillä laktoosin pilkkoutuessa veren glukoosipitoisuuden tulisi nousta yli tämän arvon. [Savilahti & Järvelä 2002: 4339; Hillilä 2007: 2744; Laktoosi-intoleranssi; Mustajoki 2017; Vesa ym. 1993: 51–54.]

Rasituskokeen herkkyys ja spesifisyys ovat yli 75 % [Savilahti & Järvelä 2002: 4339] ja kokeen suoritus aika suhteellisen lyhyt. Laktoosirasituskoetta on kuitenkin kritisoitu sen

annostuksesta, sillä 50 g:n annos laktoosia ylittää normaalin laktoosin saannin rajan ja aiheuttaa oireita joillekin, jotka eivät niitä normaalikäytöllä saa. Monet potilaat myös kokevat menetelmän epämiellyttävänä. Verensokerin nousuun vaikuttavat laktoosin pilkkoutumisen lisäksi potilaan hormonitoiminta sekä mahalaukun tyhjenemisnopeus, jotka voivat aiheuttaa virheellisiä tuloksia. Glukoosipitoisuuden muutoksen lisäksi on tärkeää seurata potilaalle laktoosirasituksesta syntyviä oireita, sillä ne voivat antaa vihjeen testin mahdollisesta epäonnistumisesta tai tarjota lääkärille tärkeää tietoa potilaan oirekuvasta. [Savilahti & Järvelä 2002: 4339; Vesa ym. 1993: 51–54; Law ym. 2010; Kolho 2013.]

Laktoosirasituskoe ei sovellu kaikille. Diabeetikoilla menetelmä on epäluotettava, sillä veren glukoosipitoisuus voi nousta yli viitearvojen, vaikkei laktoosi pilkkoutuisikaan [Vesa ym. 1993: 54; Puhakka 2004: 216]. Lapsilla taas mahalaukku tyhjenee usein hitaasti verrattuna aikuisiin ja suoleen joutuva laktoosimäärä voi jäädä pieneksi [Kolho ym. 2004]. Toisaalta joillain henkilöillä, eritoten lapsilla, glukoosi imeytyy verestä soluihin erityisen nopeasti ja 20 minuutin mittausväli on riittämätön havainnoimaan nopeita glukoosipitoisuuden nousuja. Näistä seikoista johtuen jopa 30 % lasten positiivisista laktoosirasituskokeen tuloksista on virheellisiä. [Vesa ym. 1993: 54; Savilahti & Järvelä 2002: 4339.]

Laktoosirasituskokeessa tulee ottaa huomioon, että viitearvot on luotu kapillaariverinäytteille, eli sormenpäistä otettaviksi. Tästä huolimatta monet laboratoriot ottavat näytteet laskimoverestä näytteenoton helpottamiseksi. Laskimo- ja kapillaariglukoosi ovat samalla tasolla ainoastaan paastovaiheessa, ja laktoosin nauttimisen seurauksena laskimoveren glukoosipitoisuus nousee vähemmän kuin kapillaariveressä, jolloin 1,1 mmol/l tulkintaraja on liian suuri ja aiheuttaa vääriä positiivisia tulkintoja. Väärin suoritettavat kokeet lisäävät toistokokeiden määrää, mikä puolestaan kasvattaa terveydenhuollon kustannuksia ja viivästyttää potilaan oikean diagnoosin saamista. [Irla 2007.]

Laktoosirasituskokeen luotettavuutta voidaan nostaa nauttimalla kokeen yhteydessä etanolia 150–250 mg ruumiin painokiloa kohti. Etanoli-laktoosirasituskokeessa mitataan glukoosin sijasta galaktoosipitoisuuden nousua joko verestä tai virtsasta. Normaalitilanteessa veressä tai virtsassa ei tulisi olla mitattavaa määrää galaktoosia, sillä maksa muokkaa sen nopeasti glukoosiksi. Etanoli kuitenkin hidastaa galaktoosin muokkaantumista glukoosiksi maksassa, jolloin galaktoosia imeytyy vereen ja sitä myöten virtsaan. [Vesa ym. 1993: 54–56; Savilahti ja Järvelä 2002: 4339; Irla 2007.]



Etanoli-laktoosirasituskokeen verinäytteessä näytteenotto tapahtuu 20 ja 40 minuuttia laktoosin nauttimisen jälkeen, ja näytteestä määritetään sekä glukoosi että galaktoosi. Virtsasta määritettäessä rakko tyhjennetään ja ensimmäinen näyte otetaan ennen laktoosin nauttimista, loput 20 ja 40 tai vain 40 minuuttia laktoosin ja etanolin nauttimisen jälkeen. Verinäytteessä glukoosin viitearvot ovat samat kuin ilman etanolia, ja 0,3 mmol/l galaktoosipitoisuuden nousu indikoi laktoosin normaalia pilkkoutumista. Galaktoosin alle 0,2–0,3 mmol/l pitoisuus virtsassa osoittaa hypolaktasiaa. Etanoli-laktoosirasituskokeen herkkyys on 81–94 % ja spesifisyys 96–98 %, mutta kielteinen suhtautuminen etanolin sen muiden haittavaikutusten vuoksi rajoittaa kokeen käyttöä [Irrjala 2007]. Etanoli ei myöskään sovellu kaikille, kuten lapsille ja alkoholismista kärsiville. [Vesa ym. 1993: 54–56; Savilahti ja Järvelä 2002: 4339.]

## 5.2 Hengitystesti

Yksi käytetyimmistä laktoosi-intoleranssin todentamismenetelmistä on hengitystesti, mutta Suomessa se ei ole yleisessä kliinisessä käytössä [Law ym. 2010; Hillilä 2007: 2744]. Testiä käytetään paljon seulonta- ja väestötutkimuksiin ja sitä pidetäänkin parhaana seulontamenetelmänä. Hengitystestiin on saatavilla useita helppokäyttöisiä laitteita, joilla mitataan potilaan uloshengityksen vetypitoisuuden muutosta laktoosin nauttimisen jälkeen. Koe vaatii laktoosirasituskokeen tavoin yön yli paastoamista, ja ensimmäinen näyte otetaan ennen laktoosiannoksen nauttimista. Näytteiden otto tapahtuu puolen tunnin intervalleissa 3–5 tunnin ajan laktoosiannoksen nauttimisen jälkeen ja uloshengitysilman vetypitoisuuden nousu yli 20 ppm indikoi laktoosi-intoleranssia. [Vesa ym. 1993: 56–58; Savilahti & Järvelä 2002: 4339; Mattar ym. 2012.]

Hengitystesti perustuu siihen, ettei pilkkoutumaton laktoosi imeydy ohutsuolesta, vaan kulkeutuu ruuansulatuskanavassa paksusuoleen, jossa bakteerit käyttävät sitä ravinnokseen. Tämän bakteerikäymisen seurauksena syntyy kaasuja, pääosin vetyä, metaania ja hiilidioksidia. Vetyä imeytyy suolesta verenkiertoon, mitä kautta se päättyy keuhkoihin ja siten uloshengitysilmaan. Menetelmä on potilaalle suhteellisen miellyttävä ja helppo, mutta mittausaika on pitkä johtuen suuresta vaihtelusta laktoosin kulkuajassa paksusuoleen. [Vesa ym. 1993: 56–58; Savilahti & Järvelä 2002: 4339.]

Suosioistaan huolimatta hengitystestissä on heikkoutensa. Arviolta jopa 20 % väestöstä ei kykene tuottamaan vetyä ruuansulatuskanavassaan, mikä luonnollisesti aiheuttaa vir-

heellisiä negatiivisia tuloksia. Ongelma voidaan pääosin välttää mittaamalla myös metaanipitoisuuden nousua uloshengitysilmassa, mutta tämä ominaisuus on saatavilla vain osassa laitteista. Myös suoliston pH, antibioottikuurit ja muut suolistoflooran kuntoa muuttavat tekijät vaikuttavat kaasujen tuotantoon ja siten aiheuttavat virheellisiä tuloksia. Bakterikannan liikakasvu puolestaan on merkittävin väärin positiivisten tulosten aiheuttaja hengitystestissä. [Savilahti & Järvelä 2002: 4339; Mattar ym. 2012; Kolho 2013.]

Oireiden tarkastelu testin aikana on tärkeää, sillä niistä voi saada vihjeitä virheellisestä tuloksesta. Väärään negatiiviseen tulokseen viittaa se, että oireita ilmaantuu, mutta hengityksen vetypitoisuus ei nouse. Tällöin on syytä epäillä potilasta vetyä tuottamattomaksi, jolloin toisenlainen testausmenetelmä on tarpeen. Väärää positiivista tulosta taas voi päätellä oireiden ilmaantumisnopeudesta. Oireiden ilmaantuminen heti laktoosin nauttimisen jälkeen viittaa bakterikannan liikakasvuun. Laktoosi-intoleranssissa oireet ilmaantuvat vasta laktoosin päätyessä paksusuoleen, mihin kuluu yksilön ruuansulatusnopeudesta riippuen aikaa yleensä 50–100 minuuttia. [Deng ym. 2015.]

### 5.3 Disakkaridaasientsyymin aktiivisuusmittaus ohutsuolesta

Laktaasiaktiivisuutta voidaan mitata suoraan ohutsuolen limakalvolta otettavasta koepalasta ja jotkut kutsuvatkin menetelmää kultaiseksi standardiksi laktaasin puutoksen toteamisessa. Menetelmä on tarkin mahdollinen laktaasin puutoksen määrittämiseen, mutta sitä tarvitaan harvoin tavanomaisen diagnostiikan tueksi. Paitsi että menetelmä on kallis ja vaivalloinen, se on hyvin invasiivinen eli kajoava. Menetelmää käytetäänkin lähinnä tutkimustarkoitukseen ja referenssitutkimuksena. [Vesa ym. 1993: 58; Savilahti & Järvelä 2002: 4339–4340; Law ym. 2010; Kolho 2013; Mattar 2012.]

Koepalat kerätään endoskopiututkimuksessa ohutsuolen limakalvolta, usein tyhjäsuolesta. Osa koepalasta homogenoidaan ja homogenaatin kyky pilkkoa laktaasia mitataan. Normaalin laktaasiaktiivisuuden rajana pidetään yli 10 U/g proteiinia. Koepalasta määritetään myös laktaasin ja sakkaraasin suhde, jota käytetään lisäriteerinä koepalan osuvuuden arvioinnissa ja alle 0,3:n suhde indikoi laktaasin puutosta. [Vesa ym. 1993: 58-59; Savilahti & Järvelä 2002: 4339–4340; Kolho 2013; Nikaki & Gupte 2016.]

Menetelmä kertoo laktaasiaktiivisuuden ainoastaan siinä kohdassa suolta, josta koepala on otettu. Laktaasiaktiivisuus voi kuitenkin vaihdella suolen eriosissa, erityisesti sekundaarisessa laktaasin puutoksessa, jossa suoli tai sen osa on vaurioitunut. Tästä syystä

liian proksimaalinen, pienellä alueella suoritettu näytteenotto aiheuttaa virhetuloksia, ja koepaloja tulisi ottaa useita, eri kohdista suolta. [Vesa ym. 1993: 59; Savilahti & Järvelä 2002: 4340.]

Biopsia-näytettä ei yleensä välittömästi päästä analysoimaan ja näyte pitää kuljettaa laboratorioon. Näytteen kuljetuksessa ja säilytyksessä tapahtuneet virheet voivat laskea koepalan laktaasiaktiivisuutta ja siten myös aiheuttaa vääriä positiivisia tuloksia. [Rao ym. 2012.]

#### 5.4 Geenitesti

Primaarinen hypolaktasia on periytyvää ja laktaasin aktiivisuuden säilyvyyden aiheuttava pistemutaatio löytyy LCT13910-geenistä, kromosomista 2, paikasta 21. Laktaasiaktiivisuuden säilyminen on dominoiva ominaisuus, ja aiheutuu sytosiinin C muuttuessa tymidiiniksi T. Hypolaktasian periytyessä resessiivisesti ainoastaan genotyypin C/C tulkitaan indikoivan hypolaktasiaa, kun genotyyppien C/T ja T/T katsotaan tarkoittavan normolaktasiaa, eli laktaasientsyymin korkeaa aktiivisuutta. [Laktoosi-intoleranssi, DNA-tutkimus 2010; Mattar ym. 2012.]

Genotyypin määrittämiseksi potilaalta otetaan laboratoriosta riippuen 2–5 ml:n EDTA-verinäyte ja menetelmänä käytetään polymeerasiketjureaktioon perustuvaa reaaliaikaista PCR-menetelmää. Koe ei vaadi potilaalta esivalmisteluja, kuten esimerkiksi paastoamista. Menetelmä on teknisesti helppo eikä vie paljoa hoitohenkilökunnan tai potilaan aikaa. [Savilahti & Järvelä 2002: 4340.]

Geenitesti on vähentänyt laktoosirasituskokeen käyttöä Suomessa, sillä menetelmä on tarkempi ja vie vähemmän aikaa kuin rasituskoe. Tulos on myös pysyvä ja ehdoton. Periytyvä laktaasiaktiivisuuden heikkeneminen ei kuitenkaan vielä automaattisesti tarkoita oireiden syntymistä, eikä kerro mitään oireiden voimakkuudesta. Testi ei myöskään kerro laktaasin sen hetkisestä aktiivisuudesta tai anna tietoa sekundaarisesta, ulkopuolisesta syystä johtuvasta laktaasin puutoksesta. [Savilahti & Järvelä 2002: 4340; Mattar ym. 2012; Kolho 2013.]

Geenitestin on arvioitu vähentävän terveydenhuollon kustannuksia Suomessa sen korvauksessa laktoosirasituskoetta [Piirainen ym. 2007]. Genotyypin testaukseen tarvitaan vain yksi verinäyte siinä missä laktoosirasituskokeeseen kolme, mikä vähentää osaltaan

materiaalikuluja sekä hoitajan käyttämää aikaa potilasta kohden. Koska genotyyppi ei muutu, on geenitestin tulos pysyvä, eikä sitä tarvitse toistaa esimerkiksi myöhemmällä iällä. Ihmisen laktaasin aktiivisuus kuitenkin voi muuttua iän tai suolen kunnon mukaan ja siten laktoosirasitustesti voi olla tarpeen toistaa myöhemmin. Laktoosirasituskokeen luotettavuus on geenitestiä alhaisempi, ja virheellistä testitulosta epäiltäessä saatetaan kokeen suoritus toistaa. Näistä syistä johtuen geenitestiä käytettäessä voidaan olettaa toistotestien suoritusten vähenevän.

Lapsilla genotyypin testaaminen on yleensä melko hyödytöntä, sillä normaalisti laktaasiaktiivisuus alkaa laskea vasta kouluiässä. Heikkenemisen alku riippuu yksilöstä ja etnisestä taustasta, ja suomalaisilla laktaasiaktiivisuuden lasku alkaa keskimääräistä myöhemmin kuin muissa kansallisuuksissa. Vaikka lapselta löytyisikin genotyyppi C/C, saattaa laktaasiaktiivisuus olla edelleen korkea ja mahdolliset vatsavaivat johtua jostakin muusta tekijästä. [Kolho ym. 2004.]

Genotyypin testauksessa tulkintarajat saattavat olla liian tiukat. Jo yhden sytosiinin ilmaantuminen genotyypissä tietävästi alentaa aktiivisen laktaasin määrää ja joillakin tämän genotyypin henkilöillä esiintyy oireita laktoosin nauttimisen jälkeen ilman sekundaarista laktaasin puutostakin [Kolho 2013, Kuokkanen ym. 2006]. Toisaalta herkkyys laktaasin puutokselle on niin yksilöllistä, etteivät edes kaikki C/C-genotyypin henkilöt kärsi laktoosi-intoleranssista. C/T-genotyypin henkilöillä oireet saattavat ilmentyä myös iän karttuessa, mitä puoltaa esimerkiksi Itävallassa suoritettu tutkimus, jossa genotyypiltään heterotsygoottien potilaiden hengitystestien positiivisten tulosten määrä nousi merkittävästi iän mukana [Kerber ym. 2017].

Geneettisessä testauksessa tulee aina ottaa eettiset ja tietosuojakysymykset huomioon. Yksilön genotyyppi väistämättä paljastaa myös lähisukulaisten riskejä geeniperimässä, halusivatpa he sitä tai eivät. Laktoosi-intoleranssi on kuitenkin hyvin tavallinen ja arkipäiväinen vaiva, jolloin tieto mahdollisesta perinnöllisestä laktaasin heikkenemiselle altistumisesta tuskin vaivaa muita perheenjäseniä. [Järvelä 2002: 68.]

Mikäli jollain toisella testausmenetelmällä potilaalla on todettu hypolaktasia, voitaisiin geenitestiä käyttää erittelemään, onko laktaasin puutos primaarista vai sekundaarista. Näin saataisiin tietoa, onko vaiva pysyvä vai ohimenevä. Terveystieteiden resurssit ovat kuitenkin rajalliset ja on harvinaista, että samasta vaivasta potilaalle suoritettaisiin

useita testejä, jollei ensimmäisen tuloksen voida olettaa olevan virheellinen. Tutkimuksissa geenitesti on kuitenkin hyödyllinen tarkistusmenetelmänä, mikäli esimerkiksi kaksi menetelmää antavat toisistaan poikkeavat tulokset.

## 5.5 Lactose Intolerance Quick Test

Lactose Intolerance Quick Test eli LIQT on Biohit Oyj:n valmistama diagnostinen testi laktoosi-intoleranssin nopeaan toteamiseen. Testi suoritetaan pohjukkaissuolesta otettavasta biopsianäytteestä, ja sen toiminta perustuu näytteen laktaasiaktiivisuuden osoittamiseen. [Lactose Intolerance Quick Test, Instructions for use.] Testi on helppokäyttöinen, tarkka ja nopein menetelmä hypolaktasian toteamiseen, sillä tulos on luettavissa jo 20 minuutin päästä testin aloittamisesta.

Nopea tulos on suuri etu potilaan diagnosoinnissa, sillä tulos saadaan jo heti endoskopian yhteydessä. Hypolaktasian ilmetessä pystytään suunnittelemaan ja keskustelemaan potilaan kanssa vaivan hoidosta, ja testin indikoidessa laktoosin pilkkoutumista voidaan laktoosi-intoleranssi heti poissulkea ja pohtia muita oireiden aiheuttajia.

Testistä on luettavissa kolme mahdollista tulosta: vakava hypolaktasia, lievä hypolaktasia ja normolaktasia. Vakavaa hypolaktasiaa indikoivilla oireita ilmenee lähes aina, ja yleisin genotyyppi tämän tuloksen saavilla on C/C. Tulos on mahdollista saada myös sekundaarisesta laktaasin puutoksesta kärsivillä, ja hoitamaton keliakia sairastavat lähes poikkeuksetta kärsivät myös vakavasta hypolaktasiasta. Lievää hypolaktasiaa indikoivilla laktaasiaktiivisuus on alentunut, mutta oireiden taustalla voi olla jokin muu tekijä, kuin laktoosi-intoleranssi. Oireiden ilmaantuminen voi myös olla sidoksissa nautitun laktoosin määrään, ja ne saattavat poistua myös vähälaktoosisia tuotteita käyttämällä. Lievän hypolaktasian tuloksen saavilla genotyyppi on yleisimmin C/T ja vain noin 20 %:lla potilaista ilmenee oireita. Normolaktasiaa indikoivilla laktoosi-intoleranssi ei ole mahdollinen, ja oireiden syytä on etsittävä muualta. T/T-genotyyppi säilyttää korkeimman laktaasin aktiivisuuden ja siten on yleisin tämän tuloksen saavien keskuudessa. [Kuokkanen ym. 2006; Vavricka & Wilhelmi 2017: 223.]

Lactose Intolerance Quick Test osoittaa laktaasiaktiivisuuden värinmuodostusreaktiolla, jossa positiivinen tulos, eli voimakas tumman sinisen värin muodostuminen, tarkoittaa korkeaa laktaasin aktiivisuutta, jolloin potilaalla ei ole laktoosi-intoleranssia. Mikäli värin-

muodostusta ei tapahdu, potilaalla on vakava hypolaktasia. Myös hyvin haalea värinmuodostuminen lasketaan vakavaksi hypolaktasiaksi. Turkoosin värin muodostuminen tarkoittaa lievää hypolaktasiaa. Värit ovat selkeitä ja helposti toisistaan erotettavissa. Muodostuvat värit ovat nähtävissä kuvassa 4, jossa testi on suoritettu kuoppalevyllä eri laktaasiaktiivisuuksilla. Lisäksi tuotteen pakkauksen mukana on värikartta, mikä helpottaa testin tulkintaa. [Lactose Intolerance Quick Test, Instructions for use.]



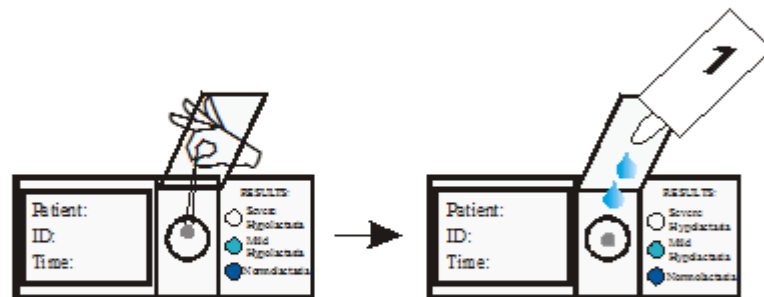
Kuva 4. LIQT-testin värinmuodostukset. Vasemmanpuoleiset, tummansiniset tulokset indikoivat normolaktasiaa, turkoosit mietoa hypolaktasiaa ja värittömät vakavaa hypolaktasiaa.

Testi suoritetaan asettamalla näytepala testialustan kaivoon, minkä jälkeen lisätään kaksi tippaa reagenssia 1. Testiä sekoitetaan rivakasti 5–6 kertaa vaakatasossa ja inkuboidaan huoneenlämmössä 15 minuuttia. Seuraavaksi kaivoon lisätään yksi tippa reagenssia 2 ja kaksi tippaa reagenssia 3. Testiä jälleen kerran sekoitetaan rivakasti 5–6 kertaa vaakatasossa ja inkuboidaan 5 minuuttia, minkä jälkeen tulos on luettavissa. Suoritus ei siis vaadi mitään laboratoriolaitteistoa tai normaalia huoneenlämpöä vaativampia olosuhteita, joskin suojahanskoja onkin syytä käyttää niin biopsianäytteen aiheuttavan riskin kuin mahdollisen reagenssienkin läikkymisen kannalta. [Lactose Intolerance Quick Test, Instructions for use.]

Reagenssi 1 on substraattiliuos, joka sisältää asetaattipuskuria sekä laktoosia. Laktaasin reaktio tapahtuu siis testin ensimmäisessä vaiheessa, kun biopsianäytteen sisältämä laktaasi pilkkoo lisätyn laktoosin glukoosiksi ja galaktoosiksi. Testin toinen vaihe on signaalireaktio, jolla aiheutetaan värinmuodostuminen, mikäli laktoosi on pilkkoutunut ensimmäisessä vaiheessa. Reagenssi 2 sisältää kromogeeniliuosta etikkahapossa, jolla lisätään glukoosioksidaasia levyllä ja saa aikaan kemiallisen reaktion, jossa glukoosi, vesi ja happi muuttuvat glukoenihapoksi ja vetyperoksidiksi. Signaali-reaktioliuos, eli reagenssi 3, on entsyymiliuos, joka saa aikaan vetyperoksidin muuntautumisen vedeksi ja kromogeenin hapettumisen. Testin suoritus ja reaktio on esitetty kuvissa 5 ja 6. [Lactose Intolerance Quick Test, Instructions for use.]

# Procedure

## STEP I



Lactase enzyme  
in biopsy specimen



Kuva 5. LIQT:n ensimmäisen vaiheen suoritus ja reaktio [Paloheimo 2016].

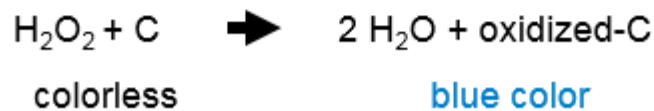
## STEP II



Glucose Oxidase



Peroxidase



C = chromogenic oxygen acceptor

Kuva 6. LIQT:n toisen vaiheen suoritus ja reaktio [Paloheimo 2016].

Testiin käytetään halkaisijaltaan noin 1,5–2 mm:n kokoista biopsianäytettä. Tätä pienemmissä näytteissä laktaasin määrä voi jäädä vähäiseksi ja testi valheellisesti indikoida

hypolaktasiaa. Suuremmissa näytteissä vastaavasti laktaasia on enemmän ja mahdollinen hypolaktasia voi jäädä huomaamatta. Testi suoritetaan välittömästi näytteen keruun jälkeen. Kuten mitä tahansa muutakin biopsianäytettä, koepalaa käsitellään varoen ja tartuntavaaraa sisältävänä. [Lactose Intolerance Quick Test, Instructions for use.]

LIQT on tarkka ja saavuttanut erinomaisia tuloksia eri tutkimuksissa. Menetelmästä tehtyjä tutkimuksia on koottuna taulukossa 1, jossa tunnusluvuille on laskettu 95 %:n luottamusväli RStudio binomitestillä luvussa 4 esitetyllä tavalla. Kuokkanen ym. [2006] saivat menetelmän herkkyydeksi 95 % ja spesifisyydeksi 100 %, kun vertailumenetelmänä oli ohutsuolen biopsiasta tehty disakkaridaasimääritys. Myös testin positive predictive value PPV, eli positiivinen ennustearvo, 100 % ja negative predictive value NPV (negatiivinen ennustearvo) 98 % olivat erittäin korkeat. PPV esittää testin oikeiden positiivisten tulosten osuutta kaikista testin positiivisista tuloksista ja NPV puolestaan oikeiden negatiivisten osuutta kaikista testin negatiivisista tuloksista.

Taulukko 1. LIQT-menetelmästä tehtyjä tutkimuksia, N=otoskoko, suluissa tunnusluvun 95 %:n luottamusväli.

Kirjoittaja ja vuosi	Vertailumenetelmä	N	Herkkyys	Spesifisyys	PPV	NPV
Kuokkanen ym. 2006	Disakkaridaasientsyymin aktiivisuusmittaus biopsiasta ja geenitesti	80	95 % (77–100 %)	100 % (94–100 %)	100 % (84–100 %)	98 % (91–100 %)
Orlandi ym. 2006	Laktoosirasituskoee	50	88 % (64–99 %)	96 % (84–100 %)	94 % (70–100 %)	93 % (80–99 %)
Ojetti ym. 2007	Vety- ja metaanihengitystesti	50	96 % (80–100 %)	96 % (80–100 %)	96 % (80–100 %)	96 % (80–100 %)
Rao ym. 2012	Disakkaridaasientsyymin aktiivisuusmittaus biopsiasta	38	100 % (40–100 %)	86 % (65–97 %)	57 % (18–90 %)	100 % (82–100 %)
Perets ym. 2013	Hengitystesti	69	97 % (84–100 %)	35 % (20–53 %)	56 % (42–70 %)	93 % (66–100 %)
Mattar ym. 2017	Geenitesti	32	100 % (85–100 %)	90 % (55–100 %)	96 % (79–100 %)	100 % (66–100 %)

Perets ym. [2013] vertasivat LIQT-menetelmää hengitystestiin laktaasin puutoksen toteamisessa, sillä halusivat tutkia sen mahdollisuutta korvata yleisesti käytetty, mutta aikaa vievä hengitystesti. Tutkimusryhmä sai menetelmälle herkkyydeksi 97 %, spesifisyydeksi 35 %, PPV 56 % ja NPV 93 %. Korkeasta NPV-arvosta Perets ym. päättelivät menetelmän tehokkaasti poissulkevan hypolaktasian mahdollisuuden, mutta sisältävän



ylidiagnosoinnin vaaran matalan spesifisyyden ja PPV:n perusteella. Esitelmän tiivistelmästä ei kuitenkaan selvinnyt, mitattiinko hengitystestissä vain vedynpitoisuuden muutosta uloshengitysilmassa vai otettiin myös metaanintuotto huomioon. Mikäli testissä huomioitiin ainoastaan vedyn erityys, on todennäköistä, että osa hengitystestin tuloksista olivat väärä negatiivisia ja siten osa LIQT-tuloksista virheellisesti tulkittu vääräksi positiivisiksi, jolloin PPV-arvo ja spesifisyys todellisuudessa olisivat tutkimuksesta saatuja korkeammat. Tutkimuksessa ei käytetty myöskään kolmatta menetelmää, jolla olisi voitu tarkistaa tulosten luotettavuutta.

Myös Ojetti ym. [2007] ovat verranneet hengitystestiä ja LIQT-menetelmää toisiinsa, tarkoituksena löytää tarkempi vaihtoehto hengitystestille. Tutkimuksessa otettiin huomioon myös vetyä tuottamattomien potilaiden aiheuttama virhelähde, joten negatiivisen hengitystestituloksen ja hypolaktasiaa indikoivan LIQT-tuloksen saaneet tutkittiin uudestaan hengitystestillä, jossa mitattiin myös metaanin erityys. Näistä neljästä tutkittavasta kolmella metaania erittyi, ja menetelmien yhteneväisyys tuloksissa kasvoi, jolloin LIQT:n herkkyys, spesifisyys, PPV ja NPV olivat kaikki 96 %. LIQT-menetelmä koettiin hengitystestiä luotettavammaksi ja menetelmän nopeus ja edullisuus luettiin testin eduksi.

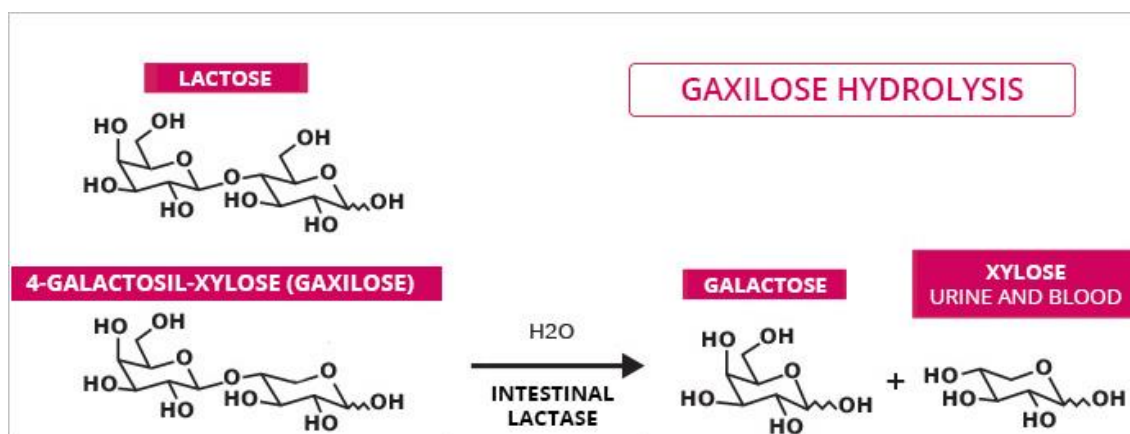
Brasilialainen tutkimusryhmä vertasi LIQT-menetelmän tulosten yhtenevyyttä genotyyppiin [Mattar ym. 2013]. Tutkimukseen osallistui 32 endoskopiaan määrättyä dyspepsiaoireista kärsivää potilasta. Testi osoitti normolaktasiaa yhdeksällä potilaalla, joista kolmella oli genotyyppi T/T ja kuudella C/T. Kaikilla vakavan hypolaktasian tuloksen saaneilla oli C/C-genotyyppi. Miedon hypolaktasian tuloksen saaneista 12 potilaasta yhdellätoista oli genotyyppi C/C ja vain yhdellä C/T, mikä tuloksena eroaa huomattavasti Kuokkanen tutkimusryhmän tuloksista [Kuokkanen ym. 2006], joissa C/T-genotyyppi oli yleisin mietoa hypolaktasiaa indikoivien keskuudessa. Eron genotyyppien yleisyydessä selittänee väestöjen eroavaisuus laktoosin siedossa, sillä monet brasilialaisen tutkimuksen osallistujista eivät saaneet laktoosista oireita, vaikka indikoivatkin vakavaa hypolaktasiaa tai olivat genotyyppiltään C/C. Verraten geenitestiin, LIQT:n herkkyys ja NPV olivat 100 %, spesifisyys 90 % ja PPV 95,6 %.

Lapsillakin Lactose Intolerance Quick Test on saanut hyviä tuloksia mm. Sheffieldin lastensairaalaossa tehdyssä tutkimuksessa [Rao ym. 2012]. Tutkittavat lapset jaettiin kahteen ryhmään, joissa toisilta näytteet otettiin isommalla endoskoopilla kuin toisella ryhmällä. Kaikilta otettiin kaksi biopsianäytettä, joista toinen tutkittiin LIQT-testillä ja toisesta tehtiin disakkaridaasianalyysi. Herkkyys ja NPV olivat molemmilla ryhmillä 100 %, mutta

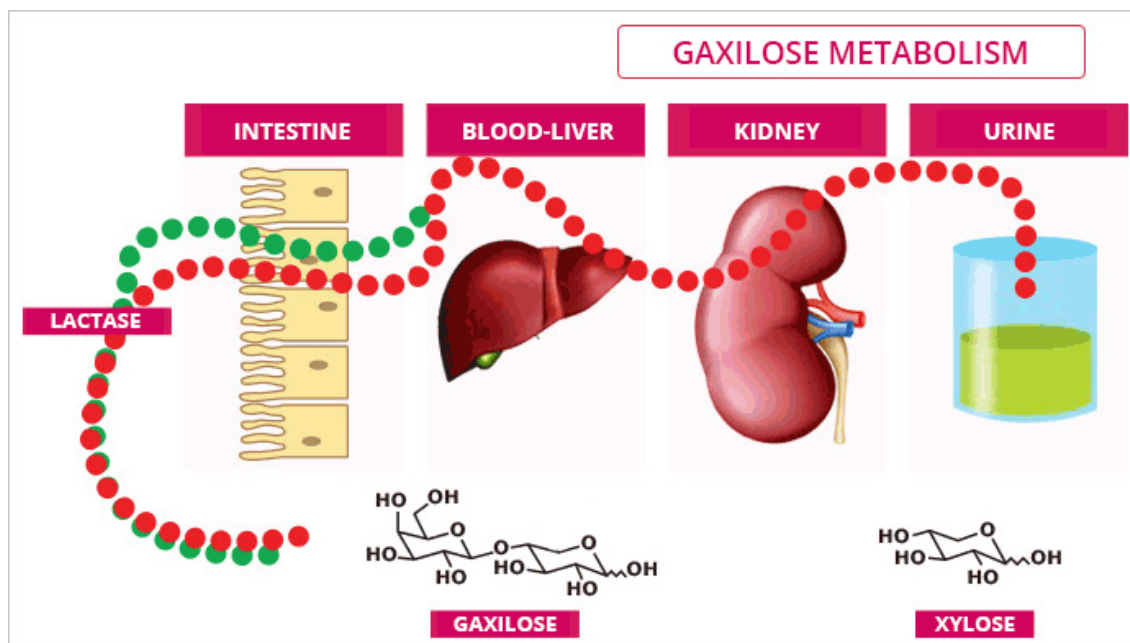
isommalla endoskoopilla saavutettiin hieman korkeampi spesifisyys 86 % kuin pienemmällä saatu 80 %. Samoin PPV oli suuremmalla 57,1 %, missä se oli pienemmällä 50 %. PPV-arvoja saattoivat laskea vertailunäytteiden mahdollinen käsittelyssä ja kuljetuksessa tapahtunut heikkeneminen ennen analysointia, sillä disakkaridaasianalyysin aloitukseen kestää pidempi aika kuin LIQT-testin suoritukseen. Menetelmän viitearvot on myös tarkoitettu enemmän laktaasia sisältävän tyhjäsuolen näytteille, kun tutkimuksessa näytteet kerättiin pohjukkaissuolesta. Myös biopsian koolla vaikuttaa tulosten perusteella olevan vaikutusta tulokseen, jolloin ainakin pienempää endoskooppia käytettäessä olisi hyvä käyttää kahta biopsiaa LIQT-testissä yhden sijasta.

## 5.6 Ksyloosin määrittäminen virtsasta

Laktoosi-intoleranssi voidaan todeta määrittämällä ksyloosin määrä virtsasta. Menetelmää hyödyntävää diagnostista testiä valmistaa ja myy LacTEST-tuotenimellä espanjalainen Venter Pharma. Menetelmässä testattava nauttii annoksen 4-O- $\beta$ -D-galaktopyranosyyli-D-ksyloosia (gaxilose), joka on laktoosin rakenneanalogiaa muistuttava syntetinen disakkaridi. Aine toimii suolistolaktaasin substraattina ja hajoaa galaktoosiksi sekä ksyloosiksi, jotka imeytyvät verenkiertoon. Maksa muokkaa galaktoosin glukoosiksi, mutta osittaisesta metabolisoitumisesta huolimatta ksyloosi erittyy verenkierrosta virtsaan. Erittynyttä ksyloosia on mahdollista määrittää myös plasmasta tai seerumista. Hajoamisreaktio ja aineen rakennekaava on avattu kuvassa 7, ja kuva 8 havainnollistaa ksyloosin kulkua elimistössä. [Sánchez-Moreno ym. 2017.]



Kuva 7. Gaxilose rakenne ja pilkkoutuminen [LacTEST]



Kuva 8. Ksyloosin kulkeutuminen elimistössä [LacTEST]

Ksyloosin kvantifiointi suoritettiin ennen manuaalisesti kolorimetrisellä floroglusolinemetelmällä. Menetelmä on teknisesti helppo, mutta tarkat reaktio-olosuhteet estävät sen automatisoinnin. Vuonna 2017 LacTESTille validoitiin uusi entsymaattinen ja automatisoivissa oleva tapa määrittää ksyloosin määrä virtsasta. Validointi suoritettiin kolmella erilaisella automatisoidulla analysaattorilla ja eri ksyloosikonsentraatioilla. Tutkimuksessa 224 virtsanäytettä tutkittiin sekä entsymaattisella että floroglusolinemetelmällä. Kun entsymaattisen menetelmän viitearvoksi määritettiin 19,18 mg, menetelmien Kappakertoimeksi saatiin 0,9531, mikä osoitti erinomaista yhteneväisyyttä metodien kesken. [Sánchez-Moreno ym. 2017.]

LacTESTin esivalmistelut muistuttavat muiden rasitukseen perustuvien menetelmien valmisteluja. Tutkittavan on oltava 10 tuntia paastossa ennen testin suorittamista. Myöskään aspiriinia tai indometasiinia ei saa käyttää kahteen vuorokauteen ennen tutkimusta, sillä niiden on todettu vähentävän ksyloosin eritystä virtsaan ja voisivat siten aiheuttaa väärän positiivisen tuloksen. Tutkittava tyhjentää virtsarakkonsa kaksi tuntia ja taas 15–30 minuuttia ennen testin suorittamista. Rasitusannoksen nauttimisen yhteydessä juodaan puoli litraa vettä virtsan erityksen ylläpitämiseksi. Testin suoritus kestää viisi tuntia rasituksesta ja tänä aikana tutkittavalta kerätään kaikki erittynyt virtsa, josta määritetään ksyloosin kokonaismäärä. Viitearvona floroglusolinemetelmälle on 37,87 mg ja entsy-

maattiselle validoinnissa määritetty 19,18 mg. Arvojen alapuolelle jäävä ksyloosin kokonaismäärä indikoi laktaasin puutosta. [Jiménez ym. 2017; LacTEST, Summary of Product Characteristics: 2.]

Ksyloosin kvantifiointi manuaalisella floroglusinolimenetelmällä suoritetaan mittaamalla spektrofotometrisesti reagenssin, eli floroglusinolin (1,3,5-OH-bentseeni) ja furfuraalin muodostaman väriliuoksen absorbanssi. Furfuraali on ksyloosin reagoimisesta voimakkaasti happamassa liuoksessa syntynyt tuote. Ennen määritystä valmistetaan kalibrointiliuos, värireagenssi ja ksyloosin standardikäyrä. Standardikäyrä esitetään sekä muodossa mg/dl että µg ksyloosia, sillä tulos esitetään ksyloosin kokonaismääränä ja suhteutetaan erittyneen virtsan määrään. Standardikuvaajan tulee ulottua väleille 0,0125–0,5 mg/dl sekä 0,25–10 µg ja standardinäytteet valmistetaan alla olevan kuvan 9 mukaisesti. Kalibrointiliuos valmistetaan ksyloosista ja Milli Q -vedestä ja sitä käytetään standardikäyrän muodostamiseen. Värireagenssiliuos valmistetaan sekoittamalla 0,5 g floroglusinolia, 100 ml jääetikkahappoa ja 10 ml suolahappoa, jolloin reagenssia riittää jopa 50 näytteen testaamiseen. Sekä kalibrointiliuoksen että reagenssin on oltava tuoreita ja ne on käytettävä viiden tunnin sisällä valmistamisesta. [LacTEST, Summary of Product Characteristics: 10.]

	Xylose Standard Curve								Samples			
Xylose, mg/dl	0	0.0125	0.025	0.05	0.1	0.2	0.4	0.5				
Xylose, 10 mg/dl (µl)	-	2.5	5	10	20	40	80	100	-	-	-	-
Urine (µl)	-	-	-	-	-	-	-	-	25	50	75	100
Milli Q water (µl)	100	97.5	95	90	80	60	20	-	75	50	25	0
Phlorogl. reagent (ml)	1.9 ml											

Kuva 9. Ksyloosin standardikuvaajan luontia varten valmistettavat näytteet. [LacTEST, Summary of Product Characteristics: 10]

Näytteet lisätään putkiin, jonka jälkeen floroglusinolireagenssia lisätään aina siihen asti, että kunkin putken liuoksen tilavuus on 2 ml. Putkia inkuboidaan 100 °C:n vesihauteessa tarkalleen 4 minuuttia ja jäähdytetään kylmässä vedessä. Absorbanssit määritetään heti jäähdytyksen jälkeen 554 nm:n aallonpituudella joko spektrofotometrillä tai kolorimetrillä. Nollanäytteenä käytetään veden ja reagenssin sekoitusta, joka on valmistettu ja käsitelty samanaikaisesti muiden näytteiden ohella. Virtsanäytteen ksyloosipitoisuus lasketaan standardikuvaajaa ja erittyneen virtsan kokonaistilavuutta hyväksikäyttäen. Määritys voidaan suorittaa samana päivänä kuin virtsankeruu, mutta asianmukaisesti pakastettu näyte voidaan mitata myöhemminkin kahden kuukauden sisällä. Näyte voidaan myös

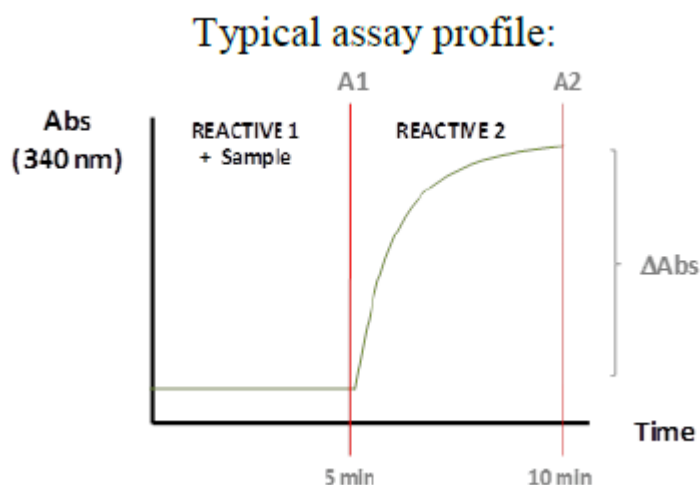
pakastaa ja sulattaa ainakin kolme kertaa tällä aikajaksolla, eikä siis laboratorion virheestä syntynyt toistomittaus vaadi potilaalta uutta virtsankeruuta. [LacTEST, Summary of Product Characteristics: 10–11.]

Entsyyttiseen määrittämiseen tarvitaan LacTESTin lisäksi Venter Pharmed myymää Xylossay-tuotepakkausta, joka sisältää testin vaatimat reagenssit ja kalibrintiliuoksen. Reagenssit 1 ja 2 valmistellaan pakkauksen ohjeiden mukaisesti ja säilytetään kylmänä, mikäli suinkin mahdollista. Menetelmä on validoitu vain tietyille analyysilaitteille, ja muita laitteita käytettäessä otetaan yhteyttä tuotteen valmistajaan. Validoidut laitteet ovat Roche Cobas 501 ja 502, Siemens Dimension Vista 1500 ja Werfen ILab 600 ja 650. Käytettävä aallonpituus on 340 nm, ja analyysi suoritetaan laitteen standardilämpötilassa. [LacTEST, Summary of Product Characteristics: 7; Xylossay.]

Analyysi suoritetaan niin virtsanäytteellä, kuin kalibrintiliuoksella. Nollanäytteessä käytetään tislattua vettä. Näyte sekoitetaan reagenssin 1 kanssa ja syntynyttä liuosta inkuboidaan viisi minuuttia, minkä jälkeen mitataan absorbanssi A1. Liuokseen lisätään reagenssi 2, sekoitetaan ja inkuboidaan jälleen viisi minuuttia. Mitataan absorbanssi A2, ja lasketaan absorbanssin muutos niin virtsanäytteellä, kuin kalibrintiliuoksella. Koska kalibrintiliuoksen ksyloosikonsentraatio on 3,75 mg/dl, saadaan virtsanäytteen ksyloosikonsentraatio yksikössä mg/dl alla olevasta kaavasta. [LacTEST, Summary of Product Characteristics: 7-8.]

$$c(\text{näyte}) = \frac{\Delta Abs(\text{näyte})}{\Delta Abs(\text{kalibrintiliuos})} \times 3,75 \text{ mg/dl}$$

Ksyloosin kokonaismäärän milligrammoina voi halutessaan laskea konsentraatiosta kertomalla sen näytteen kokonaistilavuudella desilitroina. Tyypillisen ksyloosin entsymaattisen kvantifioinnin profiilin kuvaaja on nähtävissä kuvassa 10. [LacTEST, Summary of Product Characteristics: 8.]



Kuva 10. Tyypillinen ksyloosin entsyymaattisen kvantifioinnin profiili [LacTEST, Summary of Product Characteristics: 8]

LacTESTin floroglusinolimetodilla on tuotekuvauksen mukaan 93,5 %:n herkkyys ja 91,8 %:n spesifisyys, kun vertailumenetelmänä on ollut laktaasiaktiivisuuden mittaaminen ohutsuolen biopsiasta. Entsyymaattisella menetelmällä vastaavat arvot ovat 95,5 % ja 99,3 %, mutta vertailukohtana käytettiin floroglusinolimenetelmää. [LacTEST, Summary of Product Characteristics: 11.] Testistä on kuitenkin saatavilla melko vähän tutkimustuloksia, eikä esimerkiksi Jiménezin ym. [2017] tutkimuksessa lukemat 82 % ja 68 % olleet aivan yhtä korkeita, vaan lyhennetyllä laktoosirasitustestillä ja oirekuvan kartoituksella saavutettiin korkeampi herkkyys ja spesifisyys. Toisaalta vertailumenetelmänä toimi genotyypin määrittäminen, mikä osaltaan selittää väärien positiivisten määrää mm. LacTESTillä. LacTEST osoittaa myös sekundaarisen hypolaktasian, mistä yksilön genotyyppi ei anna mitään viitteitä. Näiden tutkimusten perusteella LacTEST vaikuttaa luotettavalta, korkean herkkyyden ja spesifisyyden menetelmältä.

Korkeasta herkkyydestä ja spesifisyydestä huolimatta LacTESTin käyttö ei toistaiseksi ole levinnyt laajalle. Sairaalaboratoriot ovat pitkälti automatisoituja, ja uusien manuaalisten menetelmien lisäämistä testausvalikoimiin on vältetty [Sánchez-Moreno ym. 2017]. Tämä osaltaan loi painetta luoda automatisoitavissa oleva menetelmä ksyloosin määrittämiseen floroglusinolimenetelmän ohelle mahdollistamaan testivaihtoehdon yleistymisen kliinisessä käytössä.

LacTESTin vaikutusta Espanjan terveydenhuollon kustannuksiin on tutkittu [Darba ym. 2012]. Tutkimuksessa arvioitiin budjettia Espanjan kansallisen terveydenhuollon per-

spektiivistä neljän vuoden tarkastelujaksolla. Käytettyjä testejä olivat hengitystesti, laktoosirasituskoe, ohutsuolen biopsiasta tehtävä laktaasin määrittäminen, geenitesti, suoliston pH:n mittaaminen sekä LacTEST. Testien potentiaalinen lukumäärä arvioitiin oirekuvaltaan soveltuvien potilaiden määrästä 45 espanjalaisessa sairaalassa. Kustannusarvioissa otettiin huomioon diagnostisista testeistä, laboratoriotesteistä, lääkärikäynneistä ja henkilökunnan käyttämästä ajasta aiheutuvat kulut. LacTESTin lisäämisen testivalikoimaan arvioitiin korottavan terveydenhuollon kuluja kohtuullisesti, sillä kuluiksi arvioitiin ilman LacTESTiä 81,7 miljoonaa euroa ja testin kanssa 89,7 miljoonaa euroa. Toisaalta testin luotettavuus on suurempi kuin monilla muilla menetelmillä, mikä vähentäisi toistomittauksia ja alentaisi siten kustannuksia. Toisaalta tutkimuksen aikana ei vielä ollut käytössä automatisoitavaa entsyymattista menetelmää, joka mahdollisesti alentaisi laboratoriohenkilökunnan käyttämää aikaa testiä kohden.

## 5.7 Muut menetelmät

Laktaasin puutos voidaan todeta määrittelemällä galaktoosin ja kreatiniinin suhde tutkitavan virtsasta. Tutkimus suoritetaan laktoosirasituskokeen tapaan, mutta verinäytteiden sijasta tutkittavalta kerätään virtsaa tunnin välein, kolmen tunnin ajan laktoosiannoksen nauttimisesta. Virtsasta määritetään sekä galaktoosi että kreatiniini, ja näiden suhteesta voidaan päätellä laktaasientsyymin aktiivisuutta. Mikäli suhde on alle 0,1, tulkitaan tutkitavalla olevan hypolaktasia. [Vesa ym. 1993: 56.]

Vauvoilla laktaasin puutosta voidaan tutkia ulosteesta mittaamalla sen pelkistävien sokerien pitoisuutta tai määrittämällä sen pH. Sokerien toteamiseen voidaan käyttää esimerkiksi virtsamittauksiin luotuja pikatestejä. Tutkitavan tulee nauttia muutamien tuntien kuluessa ennen mittausta laktoosipitoista maitoa. Normaalialueeksi tulkitaan, kun pH on yli 6 ja pelkistävien sokerien määrä ulosteessa jää alle yhden prosentin. Normaalialueesta poikkeavat tulokset tulkitaan hypolaktasiaksi. [Savilahti & Järvelä 2002: 4338.]

## 6 Pohdinta

Eri menetelmät vaihtelevat niin toimintaperiaatteeltaan, tarkkuudeltaan kuin kajoavuudeltaan eli invasiivisuudeltaan. Menetelmää valittaessa olennaista on ottaa huomioon menetelmän soveltuvuus kyseiselle potilaalle, suoritetaanko potilaalle muita tutkimuksia ja mitkä ovat sairaalan, terveysaseman tai laboratorion käytettävissä olevat resurssit. Ainoita laktaasiaktiivisuutta suoraan määrittäviä menetelmiä ovat ohutsuolen biopsiasta tehtävä disakkaridaasianalyysi sekä Lactose Intolerance Quick Test. Myös geenitesti lasketaan suoraksi menetelmäksi, sillä se osoittaa hypolaktasian aiheuttavan genotyypin. Rasituspohjaiset menetelmät ovat epäsuoria ja perustuvat toissijaisen aineen pitoisuuden muutoksen osoittamiseen laktoosin pilkkoutumisen seurauksena, esim. tietyn sokerin pitoisuuden nousu veressä tai virtsassa sekä hengitystestin tapauksessa pilkkoutumattoman laktoosin aiheuttama kaasun muodostus. Eri menetelmiä ja niiden ominaisuuksia vertaillaan tiivistetysti taulukossa 2.



Taulukko 2. Hypolaktasian toteamiseen käytettyjen menetelmien ominaisuuksia.

Menetelmä	Edut	Haitat	Muuta
Laktoosirasitus koe	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Edullinen</li> <li>- Teknisesti helppo</li> <li>- Suhteellisen lyhyt testausaika</li> <li>- Ei-invasiivinen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Heikoin luotettavuus</li> <li>- Potilaalle epämukava mm. paaston ja useiden verinäytteiden vuoksi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Etanoli lisää kokeen luotettavuutta</li> <li>- Lapsilla virheellisiä tuloksia jopa 30 %</li> <li>- Poistumassa laboratoriodien tutkimusvalikoimasta</li> </ul>
Hengitystesti	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ei-invasiivinen</li> <li>- Potilaalle mukava näytteenotto</li> <li>- Tarkempi, kuin laktoosirasituskoee</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Vetyä tuottamattomat aiheuttavat vääriä negatiivisia tuloksia</li> <li>- Aikaa vievä</li> <li>- Paasto ja muut esivalmistelut</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Luotettavampi, jos vedyn lisäksi mitataan metaaninpitoisuutta</li> <li>- Käytetyin menetelmä</li> </ul>
Geenitesti	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tarkka</li> <li>- Pysyvä tulos</li> <li>- Yksi verinäyte riittää</li> <li>- Ei esivalmisteluja</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ei ole funktionaalinen</li> <li>- Ei osoita sekundaarista hypolaktasiaa</li> <li>- Ei anna tietoa oireista</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ei sovellu lapsille</li> <li>- Vain C/C tulkitaan hypolaktasiaksi, mutta jo C/T tutkitusti alentunut laktaasiaktiivisuus</li> </ul>
Disakkaridaasi analyysi	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Luotettavin menetelmä</li> <li>- Mittaa suoraan laktaasin aktiivisuutta</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Vaativa</li> <li>- Invasiivinen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ei juurikaan kliinisessä käytössä</li> <li>- Soveltuu hyvin tutkimuksiin</li> </ul>
LIQT	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nopein menetelmä</li> <li>- Teknisesti helppo</li> <li>- Tarkka ja luotettava</li> <li>- Ei vaadi erikoislaitteistoa</li> <li>- Erottelu normolaktasian, miedon hypolaktasian ja vakavan hypolaktasian välillä</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Invasiivinen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Soveltuu endoskopiaan määrätyille potilaille</li> <li>- Tulokset saadaan jo endoskopiakäynnin aikana</li> </ul>
LacTEST	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ei-invasiivinen</li> <li>- Tarkka</li> <li>- Virtsan keruu suhteellisen helppo näytteenottotapa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Vaatii paaston</li> <li>- Testi kestää jopa 5 h</li> <li>- Vain vähän tutkimustuloksia saatavilla</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ksyloosin määrittämiseen kaksi eri tapaa, joista vain toinen automatisoitavissa</li> </ul>

Yleisesti käytetyistä laktoosi-intoleranssin diagnosointimenetelmistä laktoosirasituskoetta pidetään luotettavuudeltaan heikkona, mistä syystä sen käyttöä onkin vähennetty ja siitä yritetään luopua. Hengitystestiä on pidetty hieman perinteistä laktoosirasituskoetta luotettavampana, mutta tutkimustuloksissa LIQT ja LacTEST päihittävät kyseisen menetelmän, joskin LacTESTistä on vielä hyvin niukasti tutkimusdataa saatavilla. Tule-

vaisuus tulee näyttämään, onko testin luotettavuus yhtä korkealla tasolla kuin validointitulokset antavat ymmärtää. Geenitesti on yksinkertainen ja luotettava menetelmä, mutta luonteeltaan eroaa muista menetelmistä, eikä ole täysin verrattavissa niihin. Ohutsuolen disakkaridaasin aktiivisuusmittaus on kaikista menetelmistä luotettavin, mutta myös vaativin.

Terveysthuollon menot kasvavat jatkuvasti, jolloin myös diagnostisten menetelmien aiheuttamia kuluja ja hyötyä on syytä tarkastella [Piirainen ym. 2007]. Kustannuksia kasvattavat mm. toistomittaukset, mahdollisen erikoislaitteiston tarve ja muut materiaalikulut sekä henkilökunnan kuluttama aika. Pitkään kestävät, yleensä rasisuspohjaiset testit vievät paljon hoitohenkilökunnan aikaa, joskin mahdollisuuksien mukaan voidaan palvella useampaa potilasta samanaikaisesti ja siten vähentää työajasta ja palkasta johtuvia kustannuksia potilasta kohden. Useita näytteitä vaativat testit voivat myös olla materiaalikustannuksiltaan suurempia. Mikäli koe voidaan suorittaa jonkun toisen tutkimuksen yhteydessä, säästetään huomattavasti kustannuksia verrattuna erikseen järjestettyyn koetilanteeseen. Esimerkiksi gastroskopiaan määrätystä potilaalta tutkimuksen yhteydessä suoritettu LIQT-testi aiheuttaa kustannuksia lähinnä testikitin hinnan verran [Rao ym. 2012], mutta erikseen suoritettu rasisuskoe tai hengitystesti veisi merkittävästi enemmän henkilöstön ja potilaan aikaa sekä aiheuttaisi ylimääräisiä näytteenottokustannuksia.

Edellä mainituista terveydenhuollon kustannuksia nostattavista tekijöistä toistomittauksen todennäköisyyttä luonnollisestikin lisää menetelmän alhainen luotettavuus, sillä mitä suurempi todennäköisyys virheelle on, sitä tarpeellisemmaksi tulee tarkistaa tulos uudella kokeella. Myös mm. henkilön ikä voi vaikuttaa, tarvitseeko häneltä myöhemmin testata laktoosi-intoleranssin mahdollisuus uudestaan, jolloin laktaasiaktiivisuus olisi mahdollisesti laskenut edelliseltä testauskerralta. Toistomittaus aiheuttaa lisäkustannuksia paitsi itse kokeen hinnan ja materiaalikulujen verran, myös. tila- ja palkkakustannusten suhteen, jotka ovat merkittävimpiä kustannustekijöitä testien suorittamisessa [Piirainen 2007]. Näitä syitä on luettu geenitestin eduksi, jonka tulos on ehdoton, pysyvä ja yksiselitteinen. Testi ei kuitenkaan ole funktionaalinen eli toiminnallinen, mikä vähentää sen arvoa laktaasin sen hetkisen aktiivisuuden arvioinnissa ja voi asettaa tarpeen jonkin toisen testausmenetelmän käytölle esimerkiksi sekundaarisen hypolaktasian löytämiseksi.

Laktoosi-intoleranssi on hypolaktasian oireellinen tila, ja oireiden voimakkuus on hyvin yksilöllistä. Siten potilaan herkkyys aistia suolen impulsseja, mahalaukun tyhjenemisno-

peus ja paksusuolen bakteeriflooran kyky hyödyntää pilkkoutumatonta laktoosia vaikuttavat oireiden syntyyn ja voimakkuuteen, ei ainoastaan laktoosin aktiivisuustaso. Tästä johtuen joidenkin kokeiden ehdottomat viitearvot voivat olla ongelmallisia, sillä alentuneen laktaasin aktiivisuustason henkilöillä voi ilmetä laktoosista oireita, vaikka tulosta ei hypolaktasiaksi luettaisikaan. Tällainen tilanne voi olla esimerkiksi C/T-genotyypin henkilöillä, ja LIQT-menetelmän tulos mieto hypolaktasia kuvaa tätä ryhmää.

Potilasmukavuus on olennainen tekijä testimenetelmää valitessa. Rasituspohjaisissa testeissä, kuten laktoosirasituskoe, hengitystesti ja LacTEST, vaaditaan potilaalta vähintään kymmenen tunnin paastoa mahdollisten muiden vaatimusten kuten tietyn lääkelaisten tai tupakoinnin välttämisen lisäksi. Mikäli potilaan motivaatio noudattaa annettua ohjeistusta testin esivalmisteluiden suhteen on heikko, on riskinä ohjeistuksen laiminlyönti ja siitä johtuva epäluotettava testituloks. Laktoosirasituskokeen ja hengitystestin laktoosiannokset ovat melko suuria ja aiheuttavat usein oireita, mikä tekee testauksesta epämiellyttävää potilaalle. Toisaalta taas oireiden ilmeneminen lisää kyseisten kokeiden arvoa ja voi antaa arvokasta tietoa oireiden voimakkuudesta. Laktoosin määrä ylittää kuitenkin normaalista maidon nauttimisesta saatavan annoksen, ja oireita voi syntyä myös potilaille, jotka eivät normaalikulutuksellaan niitä saisi. Tällöin voidaan alkaa epäillä oikeaakin negatiivista testitulosta virheelliseksi ja potilas saatetaan määrätä tarpeettomaan toistomittaukseen.

Mahdollisen testimenetelmän kajoavuus eli invasiivisuus koetaan usein epämiellyttävänä tekijänä, ja siksi rasituspohjaiset, ei-invasiiviset menetelmät ovat suosittuja hypolaktasian toteamisessa. Tämä selittää mm. hengitystestin yleisyyttä kliinisessä käytössä, sillä se on perinteistä laktoosirasituskoetta luotettavampi ja hengitysnäytteen antaminen koetaan usein verinäytettä mukavammaksi. Ei-invasiiviset menetelmät soveltuvat paremmin myös seulontatutkimuksiin. Invasiiviset menetelmät, kuten biopsioista suoritettavat kokeet, ovat kuitenkin tarkempia ja luotettavampia menetelmiä. Ne suoritetaankin usein muutoinkin tehtävän endoskopian yhteydessä, jolloin ne eivät lisää potilaan epä-mukavuutta. Potilasta harvoin määrätään pelkän laktoosi-intoleranssiepäilyn vuoksi endoskopiaan.

Menetelmän käyttämisen helppous on sen arvoa nostattava tekijä, sillä virheiden myötä myös toistomittausten määrä kasvaa. Tästä toimii hyvänä esimerkkinä laktoosirasituskokeessa usein käytetty väärä näytteenottotapa, koska hoitajat kokevat helpommaksi ottaa näytteet laskimoverestä kuin kapillaarisuonista [Irrjala 2007]. Laskimoveren glukosipitoisuuden nousu jää huomattavasti alemmas kuin kapillaariveren, ja potilas voi saada

virheellisen positiivisen tuloksen. Mikäli testitulos indikoi laktaasin puutosta, mutta potilas ei saa oireita rasituskokeessa nautitusta laktoosiannoksesta, on syytä epäillä tuloksen paikkaansa pitävyyttä. Hankalat ja aikaa vievät menetelmät eivät myöskään ole kovin käytännöllisiä jatkuvassa käytössä ja syövät henkilökunnan resursseja. Muun muassa tästä syystä ohutsuolesta tehtävää disakkaridaasientsyymien aktiivisuusmittausta harvemmin käytetään normaalissa kliinisessä diagnosoinnissa, vaikka se on saatavilla olevista menetelmistä tarkin ja luotettavin. Menetelmä on kuitenkin arvokas tutkimuskäytössä, jossa se soveltuu mainiosti esimerkiksi vertailukokeeksi. Koepaloista tehdyissä määrityksissä LIQT sopii yksinkertaisuutensa ansiosta paremmin kliiniseen käyttöön.

Lapsille sopivan testausmenetelmän löytäminen on hankalampaa kuin aikuisille. Geenitesti soveltuisi ainoastaan poissulkudiagnostiikkaan, jos lapselta ei löydy hypolaktasian aiheuttavaa genotyyppiä [Piirainen ym. 2007]. Vaikka C/C-genotyyppi löytyisikin, voi lapsen suoliston laktaasiaktiivisuus olla edelleen korkealla, eikä testi ole luotettava. Lapsilla esiintyy myös erilaisia infektioita, joten myös sekundaarisen hypolaktasian mahdollisuus olisi hyvä testata. Nopean mahalaukun tyhjenemisen seurauksena laktoosirasituskoe antaa paljon virheellisiä tuloksia, eikä hengitystestikään ole kovin luotettava lapsilla eikä korreloi hyvin laktoosi-intoleranssiin liitettyjen vaivojen kanssa [Kolho ym. 2004].

LIQT on saavuttanut hyviä tuloksia myös lapsipotilailla [Rao ym. 2012], mutta biopsiä näytteen kokoon on syytä kiinnittää huomiota. Lapsilla käytetään usein pienempää endoskooppia, jolloin kahden näytteen käyttäminen yhteen testiin on tarpeellista. Ei-invasiivisista menetelmistä LacTEST voisi soveltua myös lapsipotilaille, sillä kaikki testin aikana erittynyt virtsa kerätään ja tulos määritetään ksyloosin kokonaismäärästä. Tällöin mahalaukun tyhjenemisnopeus ja mittausajankohdat eivät olisi niin merkittäviä tekijöitä. LacTEST on kuitenkin vielä melko uusi testimenetelmä, eikä lapsilta kerättyä tutkimusdataa ole vielä saatavissa.

## 7 Yhteenveto

Laktoosi-intoleranssi voi olla primaarista, eli perinnöllistä, tai sekundaarista, jolloin vaiva on ulkoisen tekijän aiheuttama ja tulisi parantua aiheuttajan hoidon ja suolen parantumisen myötä. Perinnöllisen laktoosi-intoleranssin esiintyvyys ja puhkeamisikä vaihtelevat eri väestöissä, eikä laktaasiaktiivisuuden laskua voi ehkäistä. Suomessa hieman alle joka viides kärsii perinnöllisestä laktoosi-intoleranssista ja oireita alkaa syntyä useimmiten kouluiässä. Suurimmalla osalla maailman väestöstä on laktoosi-intoleranssi, ja monissa väestöissä vaiva tyypillisesti puhkeaa jo imeväisiän jälkeen.

Lactose Intolerance Quick Test on tarkka, luotettava ja yksinkertainen menetelmä laktoosi-intoleranssin osoittamiseen. Menetelmä soveltuu erinomaisesti endoskopiaan esimerkiksi ylävatsavaivojen vuoksi määrätyille potilaille, joilla epäillään laktoosi-intoleranssia. Muita menetelmiä ovat mm. laktoosirasituskoe, hengitystesti, geenitesti, disakkaridaasianalyysi ja uusimpana menetelmänä LacTEST. Lähimpänä verrattavissa oleva menetelmä LIQT:n kanssa on ohutsuolen biopsiasta tehtävä disakkaridaasientsyymin aktiivisuusmittaus, mutta menetelmä on vaativa ja vie huomattavasti enemmän aikaa kuin LIQT eikä siten ole kliinisessä käytössä kilpailukykyinen. Tutkimuskäytössä menetelmää pidetään vertailutestien kultaisena standardina.

Geenitesti eroa selvästi luonteeltaan muista menetelmistä, sillä se ei ole funktionaalinen menetelmä. Testillä osoitetaan mahdollinen mutaatio laktaasientsyymin läheisessä geenissä, joka aiheuttaa laktaasiaktiivisuuden säilyvyyden. Hypolaktasian aiheuttava genotyyppi ei kuitenkaan aina tarkoita oireiden syntyä eikä anna mitään osviittaa niiden voimakkuudesta. Geenitesti on myös ainoa menetelmä, joka ei paljasta sekundaarista hypolaktasiaa. Ainoastaan C/C-genotyypin katsotaan tarkoittavan hypolaktasiaa, mutta yhden sytosiinin on havaittu laskevan laktaasiaktiivisuutta genotyypillä C/T.

Laktoosirasituskoe on ollut Suomessa käytetyin menetelmä laktoosi-intoleranssin toteamiseen, mutta se on saatavilla olevista menetelmistä epäluotettavin ja siitä pyritään luopumaan. Hengitystesti on rasituskoetta luotettavampi ja käytetyin menetelmä maailmassa. Hengitystesti tulee todennäköisesti säilyttämään asemansa laktoosi-intoleranssin diagnosoinnissa, jollei toista, tarkempaa ei-invasiivista menetelmää kehitetä. Tällainen korvaava menetelmä voisi olla esimerkiksi LacTEST, mikäli menetelmä osoittautuu yhtä luotettavaksi kuin kliinisissä kokeiluissa on todettu.

## Lähteet

Biohit HealthCare - Innovating for Health. Verkkodokumentti. <<http://www.biohit-healthcare.com/fi/yritys>>. Luettu 5.2.2018

Darba, J.; Kaskens, L. & Ramírez de Arellano, A. 2012. A Budget Impact Analysis to Estimate the Economic Impact of LacTEST for the diagnosis of Hypolactasia in Spain. *Value in Health*. Vol 15, A327.

Deng, Yanyong; Misselwitz, Benjamin; Dai, Ning & Fox, Mark. 2015. Lactose Intolerance in Adults: Biological Mechanism and Dietary Management. *Nutrients*. Vol 7, s. 8020–8035.

Hillilä, Markku. 2007. Näin hoidan: Laktoosi-intoleranssi. Verkkoaineisto. Duodecim. <<http://www.terveyskirjasto.fi/xmedia/duo/duo96876.pdf>>. Luettu 9.11.2017.

Irjala, Kerttu. 2007. Laskimonäytteiden käyttö sotkee laktoosikokeen tulkintaa. *Suomen Lääkärilehti* 26/2007.

Järvelä, Irma. 2002. Ihminen, laktaasigeeni ja laktoosi-intoleranssi. Julkaisussa *Lehmä-kulttuuri ja sen tulevaisuus*, Professori Kalle Maijalan 75-vuotisjuhlaseminaari. s. 64–71. Verkkoaineisto. <<http://jukuri.luke.fi/handle/10024/452997>>. Luettu 13.11.2017.

Jiménez, José Luis Domínguez; Suárez, Antonio Fernández; Muñoz Colmenero, Aurora Úrsula; Cantillo, Daniel Fatela & Pelayo López, Iratxe. 2017. Primary hypolactasia diagnosis: Comparison between the gaxilose test, shortened lactose tolerance test and clinical parameters corresponding to the C/T-13910 polymorphism. *Clinical Nutrition*. Vol 36, s. 471–476.

Kaila, Minna; Isolauri, Erika; Savilahti, Erkki & Vanto, Timo. 2001. Maitoallergian diagnostiikka. *Duodecim*. Vol. 117, s. 318–323.

Kerber, Michaela; Oberkanins, Christian; Kriegshäuser, Gernot; Kollerits, Barbara; Dossenbach-Glaninger, Astrid; Fuchs, Dietmar & Ledchowski, Maximilian. 2007. Hydrogen breath testing versus LCT genotyping for the diagnosis of lactose intolerance: A matter of age? *Clinica Chimica Acta*. Vol. 383, s. 91–97.

Kolho, Kaija-Leena. 2013. Laktaasi. Verkkoaineisto. Duodecim Oppiportti. Gastroenterologia ja hepatologia. Luettu 13.11.2017.

Kolho, Kaija-Leena; Rasinperä, Heli; Järvelä, Irma & Savilahti, Erkki. 2004. Laktoosin imeytymishäiriön geenitestin soveltuvuus lasten ja nuorten tutkimiseen. *Suomen Lääkärilehti* 39/2004.

Kuokkanen, M.; Myllyniemi, M.; Vauhkonen, M.; Helske, T.; Kääriäinen, I; Karesvuori, S.; Linnala, A.; Härkönen, M.; Järvelä, I. & Sipponen, P. 2006. A biopsy-based quick test in the diagnosis of duodenal hypolactasia in upper gastrointestinal endoscopy. *Endoscopy*. Vol. 38, s. 708–712.

LacTEST, Summary of Product Characteristics. Venter Pharma S.L. <[www.venterpharma.com/wp-content/uploads/2015/02/common-spc-tracked-revAEMPS9oct15.pdf](http://www.venterpharma.com/wp-content/uploads/2015/02/common-spc-tracked-revAEMPS9oct15.pdf)>. Luettu 24.1.2018

LacTEST. Venter Pharma. Verkkodokumentti. <<http://www.venterpharma.com/lac-test/>>. Luettu 29.1.2018

Lactose Intolerance Quick Test, Instructions for use. Käyttöohje. Biohit Oyj. Saatavilla sähköisesti <<http://www.biohithealthcare.com/resource/files/media/manuals/li-qt-ifu.pdf>>.

Laktoosi-intoleranssi, DNA-tutkimus. 2010. Verkkoaineisto. Fimlab Oy. <[https://www.fimlab.fi/lake/ohjekirja/\\_ohje.tmpl?sivu\\_id=194;setid=6620;id=3841](https://www.fimlab.fi/lake/ohjekirja/_ohje.tmpl?sivu_id=194;setid=6620;id=3841)>. Versio 1.3. Luettu 3.11.2017.

Laktoosi-intoleranssi. Verkkoaineisto. Klinik. <<https://klinik.fi/terveysinfo/laktoosi-intoleranssi>>. Luettu 3.11.2017.

Law, David; Conklin, Jeffrey & Pimentel, Mark. 2010. Lactose Intolerance and the Role of the Lactose Breath Test. The American Journal of Gastroenterology. Vol 105, s. 1726–1728.

Mattar, Rejane; Basile-Filho, Anibal; Kemp, Rafael & Sebastião dos Santos, José. 2013. Comparison of Quick Lactose Intolerance Test in duodenal biopsies of dyspeptic patients with single nucleotide polymorphism LCT-13910C>T associated with primary hypolactasia / lactase-persistence. Acta Cirurgica Brasileira. Vol 28.

Mattar, Rejane; Ferraz de Campos Mazo, Daniel & Carrilho, Flair José. 2012. Lactose intolerance: diagnosis, genetic and clinical factors. Clinical and Experimental Gastroenterology. Vol. 5, s. 113–121.

McCullough, Darragh. 2013. Trend towards 'gluten-free' products worth millions. Verkkoaineisto. Independent. <<https://www.independent.ie/business/farming/trend-towards-glutenfree-products-worth-millions-29554034.html>>. Luettu 17.1.2018.

Mustajoki, Pertti. 2017. Laktoosi-intoleranssi. Verkkoaineisto. Lääkärikirja Duodecim. <[http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00038](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00038)>. Luettu 9.11.2017.

Nikaki, K. & Gupte, G.L. 2016. Assesment of intestinal malabsorption. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. Vol. 30, s. 225–235.

Ojetti V, La Mura R, Zocco MA, Cesaro P, De Masi E, La Mazza A, Cammarota G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. 2008. Quick test: a new test for the diagnosis of duodenal hypolactasia. Dig Dis Sci. Vol. 53, s. 1589–1592

Ojetti, Veronica; La Mura, Rosella; Assunta Zocco, Maria; Cesaro, Paola; De Masi, Ercole; La Mazza, Antonietta; Cammarota, Giovanni; Gasbarrini, Giovanni & Gasbarrini, Antonio. 2008. Quick Test: A New Test for the Diagnosis of Duodenal Hypolactasia. *Dig Dis Sci*. Vol. 53, s. 1589–1592.

Paloheimo, Lea. 2016. Diagnosis of hypolactasia from duodenal biopsy specimen by a novel rapid method: Lactose Intolerance Quick Test. *Dia-esitys*. Biohit Oyj.

Perets, Tsachi T.; Shporn, Einav; Bareli, Yifat; Kelner, Yelena; Levy, Sigal; Aizic, Shoshana; Pakanaev, Lea; Niv, Yaron & Dickman, Ram. 2013. Clinical Accuracy and Usefulness of the Lactose Malabsorption. Poster session 18. –21.5.2013. Orange County Convention Center.

Piirainen, Annukka; Järvelä, Irma & Malmi, Teemu. 2007. Laktoosin imeytymishäiriön diagnostisten menetelmien kustannukset vertailussa. *Suomen Lääkärilehti* 20-21/2007.

Piirainen, Laura & Kolho, Kaija-Leena. 2008. Maitoon liitetty vatsaoireet johtuvat monista syistä. *Suomen Lääkärilehti* 35/2008.

Puhakka, Mikko. 2014. Ruoansulatuselimistön sairaudet: Laktoosi-intoleranssi. Teoksessa Vauhkonen, Ilkka & Holmström, Peter. *Sisätaudit*. 4. –5. painos. Helsinki: Sanoma Pro.

Sánchez-Moreno, Israel; Monsalve-Hernando, Carmen; Godino, Ana; Illa, Luis; Gaspar, María Jesús; Muñoz, Guillermo Manuel; Díaz, Ana; Martín, José Luis; García-Junceda, Eduardo; Fernández-Mayoralas, Alfonso & Hermida, Carmen. 2017. Analytical Validation of a New Enzymatic and Automatable Method for d-Xylose Measurement in Human Urine Samples. *BioMed Research International*. 9/24/2017, s. 1–9.

Savilahti, Erkki & Järvelä, Irma. 2002. Laktoosin imeytymishäiriö ja sen diagnostiikka. *Suomen Lääkärilehti* 43/2002. s. 4337–4341.

Silanikove, Nissim; Leitner, Gabriel; Merin, Uzi. 2015. The Interrelationships between Lactose Intolerance and the Modern Dairy Industry: Global Perspectives in Evolutional and Historical Backgrounds. *Nutrients*. Vol 7, s. 7312–7331.

Taavitsainen, Veli-Matti. 2010. Tilastomatematiikan peruskurssi. Metropolia Ammattikorkeakoulu. Verkkoaineisto. <[http://users.metropolia.fi/~velimt/BIO14/TilMen/tilmatpk\\_with\\_R.pdf](http://users.metropolia.fi/~velimt/BIO14/TilMen/tilmatpk_with_R.pdf)> Luettu 28.2.2018.

Torniainen, Suvi; Savilahti, Erkki & Järvelä, Irma. 2009. Synnynnäinen laktaasinpuute – arvioitua yleisempi sairaus? *Duodecim*. Vol. 125, s. 766–770.

Uhari, Matti. 2004. Diagnostisten testien tunnusluvut ja niiden käyttö. *Duodecim*. Vol. 120, s. 935-941.

Vavricka, Stephan & Wilhelmi, Martin. 2017. *Essentials in Gastroenterology and Hepatology*. 2nd ed. Freiburg: Falk Foundation e.V.



Vesa, Tuula; Korpela, Riitta & Sahi, Timo. 1993. Laktoosi-intoleranssi ja sen hoito. Helsinki: Art House.

Vuorisalo, Timo; Arjamaa, Olli; Vasemägi, Anti; Taavitsainen, Jussi-Pekka; Bläuer, Auli & Saloniemi, Irma. 2012. Suomalaisen laktoosinsiedon alkuperä. Verkkoaineisto. Duodecim. <<http://www.duodecimlehti.fi/api/pdf/duo10361>>. Luettu 9.11.2017

Xylossay. Venter Pharma. Verkkoaineisto. <<http://www.venterpharma.com/xylossay/>>. Luettu 7.2.2018